

# WIRKUNG DES FUSARIENTOXINS DEOXYNIVALENOL BEIM WACHSENDEN SCHWEIN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER DARREICHUNGSFORM

Tanja Dillenburger



**INAUGURAL-DISSERTATION** zur Erlangung des Grades eines **Dr. med. vet.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2012

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1<sup>st</sup> Edition 2012

© 2012 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

**[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)**

Aus dem Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde  
Professur für Milchwissenschaften  
der Justus-Liebig-Universität Gießen  
Betreuer: Prof. Dr. Dr. habil. E. Usleber

**und**

dem Institut für Tierernährung  
der Universität Hohenheim  
Betreuer: Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. W. Drochner

**Wirkung des Fusarientoxins Deoxynivalenol  
beim wachsenden Schwein  
in Abhängigkeit von der Darreichungsform**

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von  
**Tanja Dillenburger**  
Tierärztin aus Ludwigsburg

Gießen 2011

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan                      Herr Prof. Dr. Dr. h.c. M. Kramer

Gutachter:                Herr Prof. Dr. Dr. habil. E. Usleber  
                                  Herr Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. W. Drochner

Tag der Disputation:    16. Dezember 2011

Für meinen Vater

*„Ich aber sage Euch, dass das Leben tatsächlich Dunkelheit ist,  
es sei denn, da ist Verlangen,  
Und alles Verlangen ist blind, es sei denn, da ist Wissen,  
Und alles Wissen ist eitel, es sei denn, da ist Arbeit...“*

aus Khalil Gibran „Der Prophet“



# INHALTSVERZEICHNIS

1	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.	
2	EINLEITUNG .....	1
3	LITERATURÜBERSICHT .....	3
3.1	ALLGEMEINES .....	3
3.2	FUSARIEN UND FUSARIANTOXINE.....	5
3.2.1	Vorkommen und Bedeutung von Fusarien bzw. Fusariantoxinen.....	5
3.2.2	Deoxynivalenol .....	8
3.2.2.1	Struktur und chemische Eigenschaften.....	8
3.3	TOXIZITÄT VON DEOXYNIVALENOL .....	9
3.3.1	Allgemeine Wirkung von Deoxynivalenol beim Schwein .....	10
3.3.2	Toxische Effekte von Deoxynivalenol im Detail .....	11
3.3.2.1	Inappetenz.....	11
3.3.2.2	Leistungseinbußen anderer Genese.....	13
3.3.2.3	Wirkung von Deoxynivalenol auf das Immunsystem.....	14
3.3.2.4	Andere Blutparameter.....	18
3.4	PHARMAKOKINETIK .....	18
3.5	WIRKUNG VON DEOXYNIVALENOL BEIM SCHWEIN – BISHERIGE ERGEBNISSE .....	21
3.5.1	Leistungsmindernder Effekt .....	21
3.5.2	Wirkungsunterschiede von natürlich gebildetem und im Labor synthetisiertem DON.....	25
3.6	ZIELE DER VORLIEGENDEN UNTERSUCHUNG.....	26
3.6.1	Leistungsmindernder Effekt .....	26
3.6.2	Zusammenhang mit immunologischen Veränderungen – Früherkennung.....	26
3.6.3	Umwandlung von Deoxynivalenol in einen ungiftigen Metaboliten (Deepoxidierung) .....	27
3.6.4	Histologie/Enzymatik des Darmes .....	27
4	MATERIAL UND METHODEN.....	28
4.1	GEWINNUNG VON REINEM DEOXYNIVALENOL .....	28
4.2	TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN .....	28
4.2.1	Versuchsaufbau .....	28
4.2.2	Tiere und Haltung.....	30
4.2.3	Futter .....	32

4.2.4	Fütterung .....	33
4.2.5	Probennahme .....	35
4.2.5.1	Blut .....	35
4.2.5.2	Kot .....	35
4.2.6	Euthanasie/Schlachtung .....	35
4.2.7	Organproben.....	36
4.3	WEITERFÜHRENDE UNTERSUCHUNGEN .....	36
4.3.1	Blut .....	36
4.3.2	Aufbereitung von Serum .....	37
4.3.3	Aufbereitung von Heparinblut.....	38
4.3.4	Kot.....	39
4.3.4.1	DON-Transformation .....	39
4.3.5	Bestimmung von DON/DOM-1 aus Kot.....	42
4.3.6	Organe .....	42
4.3.6.1	Probennahme zur histologischen Untersuchung .....	42
4.3.6.2	Aktivitätsbestimmung der mucosalen $\alpha$ -KGDH und ALT (Prinzip).....	43
4.4	STATISTISCHE AUSWERTUNG .....	46
4.4.1	Lebendmasse, Lebenmassezunahme, IgA, Blutparameter inkl. Elektrophorese .....	46
4.4.2	Enzymatik .....	46
5	ERGEBNISSE .....	47
5.1	TOXIN.....	47
5.2	FUTTER .....	47
5.2.1	Futterzusammensetzung.....	47
5.2.1.1	Weender Futtermittel-Analyse.....	47
5.2.1.2	Aminosäuren.....	48
5.2.1.3	Vitamine .....	48
5.2.1.4	Mineralstoff-und Spurenelemente .....	49
5.2.2	Natürliche Toxingehalte der Futterhauptbestandteile.....	51
5.2.3	Fusarinsäure .....	52
5.2.4	Toxizitätstest (MTT-Test) .....	52
5.3	TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN .....	53
5.3.1	Allgemeiner Gesundheitsstatus .....	53



5.3.2	Gewichtsentwicklung (LM, LMZ) .....	53
5.3.3	Futterraufnahme .....	58
5.4	WEITERE UNTERSUCHUNGEN .....	62
5.4.1	Blut .....	62
5.4.1.1	Immunglobuline .....	70
5.4.2	Kot .....	72
5.4.2.1	DON-Exkretion .....	72
5.4.2.2	Metabolisierung .....	72
5.4.2.3	Transformation von DON im Tierversuch .....	73
5.4.3	Organe .....	76
5.4.3.1	Enzymatik .....	76
5.4.3.2	Histologie .....	79
6	DISKUSSION .....	82
6.1	TOXIN .....	82
6.1.1	Gewinnung von reinem Deoxynivalenol .....	82
6.2	FUTTER .....	83
6.2.1	Futterzusammensetzung .....	83
6.2.2	Weender Futtermittel-Analyse .....	83
6.2.2.1	Aminosäuren .....	84
6.2.2.2	Vitamine .....	84
6.2.2.3	Mineralstoffe und Spurenelemente .....	84
6.2.2.4	Futterkonsistenz .....	85
6.2.3	Toxingehalte der Futterhauptbestandteile und der Endmischungen .....	86
6.2.4	Fusarinsäure .....	89
6.2.5	MTT-Test .....	91
6.3	TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN .....	92
6.3.1	Versuchsaufbau .....	92
6.3.2	Tiere und Haltung .....	93
6.3.3	Gewichtsentwicklung (Lebendmasse, Lebendmassezunahme) .....	94
6.3.4	Futterraufnahme .....	99
6.3.5	Eigene Ergebnisse im Vergleich mit Literaturdaten .....	100

6.4 WEITERE UNTERSUCHUNGEN.....	104
6.4.1 Blut.....	104
6.4.1.1 Thyroxingehalte.....	104
6.4.1.2 Triglyceride .....	106
6.4.1.3 Bilirubin.....	106
6.4.1.4 Alkalische Phosphatase.....	107
6.4.1.5 SDH .....	107
6.4.1.6 Eiweißfraktionen.....	108
6.4.1.7 IgA.....	111
6.4.2 Kot.....	113
6.4.2.1 DON-Exkretion.....	113
6.4.2.2 DON-Metabolisierung .....	113
6.4.3 Organe .....	119
6.4.3.1 Enzymatik.....	119
6.4.4 Histologie .....	120
6.5 FESTLEGUNG EINES GRENZWERTES FÜR DON .....	121
6.6 ABSCHLIEßENDE SCHLUßFOLGERUNGEN .....	122
7 ZUSAMMENFASSUNG .....	126
8 SUMMARY .....	128
9 LITERATURVERZEICHNIS .....	130
10 TABELLENANHANG .....	139
DANKSAGUNG .....	150
ERKLÄRUNG ZUR DISSERTATION.....	152
VERÖFFENTLICHUNG VON TEILEN DIESER ARBEIT .....	153

# 1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

$\alpha$ -KGDH	$\alpha$ -Ketoglutarat-Dehydrogenase
3-ADON	3-Acetyl-Deoxynivalenol
ALT	Alanin-Amino-Transferase
APC	antigen presenting cells
AST	Aspartat-Amino-Transferase
CD4+	T-Helferzelle
CD8	T-Suppressorzelle
CFU	colony forming unit
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
CoA	Coenzym A
DAS	Diacetoxyscirpenol
DG	Durchgang
DLG	Deutsche Landwirtschaftliche Gesellschaft
DOM	Deepoxy-Metabolit
DON	Deoxynivalenol
ER	Endoplasmatisches Retikulum
EU	Europäische Union
FA	Fusaric Acid (Fusarinsäure)
FUS-X	Fusarenon-X
$\gamma$ -GT	$\gamma$ -Glutamyl-Transferase
GC/MS	gas-chromatography/mass-spectrometry
GIT	Gastrointestinaltrakt
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HDL-Cholesterin	high densitiy lipoprotein Cholesterin
HPLC	high performance liquid chromatography
5-HT	5- Hydroxytryptamin
5-HIAA	5-Hydroxyindolessigsäure
IFN- $\gamma$	Interferon gamma
Ig	Immunglobuline
IL	Interleukin
i.g.	intrastral
Ig	Immunglobulin
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
i.p.	intraperitoneal
Ka	Kartoffel
KM	Körpermasse
LD <sub>50</sub>	Letale Dosis mit 50 % Mortalitätsrate
LDH	Laktatdehydrogenase
LDL-Cholesterin	low densitiy lipoprotein Cholesterin
LM	Lebendmasse

LMZ	Lebendmassezunahme
LPS	Lipopolysaccharide
MED	Mittlere emetische Dosis
MHC	main histocompatibility complex
MCV	mean corpuscular volume
MCHC	mean corpuscular hematocrit
MTT	3-[4,5 Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (diagnostischer Zellkulturtest)
NAD <sup>+</sup> /H	Nicotin-Adenin-Dinukleotid
NIV	Nivalenol
NOAEL	no observed adverse effect level
PBS	phosphate buffered solution
p.o.	peroral
Rd	Rind
RP-Material	reverse phase-Material
SCF	scientific committee on food
Schf	Schaf
Schw	Schwein
SDH	Sorbitdehydrogenase
SPF	spezifisch pathogenfrei
SLIC	swine large intestine content
T3	Trijodthyronin
T4	Thyroxin
TCA-Zyklus	tricarmonic-acid-cycle
TDI	tolerable daily intake
tTDI	temporary tolerable daily intake
TKG	Tausendkorngewicht
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$
UV	Ultraviolett
V <sub>d</sub>	Verteilungsvolumen
W	Weizen
ZEA	Zearalenon
ZSF	Zerebrospinalflüssigkeit
ZNS	Zentralnervensystem

## 2 EINLEITUNG

In den gemäßigten Zonen ist beim Anbau von Getreide regelmäßig mit Infektionen durch *Fusarium*-Arten zu rechnen. Diese Feldpilze schädigen zum einen die Pflanze mit der Folge massiver Ertragsausfälle. Zum anderen produzieren sie Toxine, welche auch nach der Ernte im Getreidekorn verbleiben und regelmäßig in getreidehaltigen Nahrungsmitteln zu finden sind. Der damit einhergehenden Gefährdung der menschlichen wie tierischen Gesundheit ist größere Bedeutung beizumessen, als den wirtschaftlichen Verlusten (PLACINTA et al.; 1999). Die größte Stoffgruppe der von Fusarien gebildeten Mykotoxine ist die der Trichothecene, unter denen Deoxynivalenol (DON) als das Toxin mit der häufigsten Inzidenz auffällt (MÜLLER et al.; 1997a). Durch seine Stabilität widersteht es auch Einwirkungen im Herstellungsprozeß von Nahrungsmitteln und muß als potentiell gesundheitsgefährdend eingestuft werden (SCHOLLENBERGER et al.; 1999, WOLF-HALL et al.; 1999, Widestrand; 2001).

Bislang ist keine klare Aussage über die von DON ausgehende Gefährdung der Gesundheit von Mensch und Tier möglich, da keine exakte Dosis-Wirkungsbeziehung aufgestellt werden kann. Eine Toxinwirkung, insbesondere im subakuten Konzentrationsbereich, läßt sich nur durch standardisierte Versuche sicher beurteilen. Aussagen über die Gefährdung durch chronische Belastung können nur über Langzeitversuche abgesichert werden.

Bei den bisher durchgeführten Untersuchungen zu den toxischen Effekten von DON im Tierversuch handelt es sich meist um Belastungsversuche mit Schweinen, da diese Tierart gegenüber Trichothecen am empfindlichsten reagiert (ROTTER et al.; 1995).

Aufgrund der kostspieligen Beschaffung des Reintoxins wurde in der Regel natürlich kontaminiertes Material verwendet. Im natürlichen Stoffwechsel von *Fusarium*-Arten wird aber niemals ein einziges Toxin in Reinform gebildet, sondern immer ein Toxin-Cocktail unterschiedlicher Zusammensetzung und Gehalte. Damit ist mit dem Vorliegen weiterer Mykotoxine neben DON in der natürlich kontaminierten Ration zu rechnen. Diese Studien sind somit, hinsichtlich Toxinkonzentration bzw. -verfügbarkeit, nicht standardisierbar, was zu teilweise erheblichen Unterschieden in den Ergebnissen der einzelnen Untersuchungen führt.

Erstmals wurde im Rahmen der vorliegenden Untersuchung die Wirkung von reinem DON bei Schweinen soweit als möglich unter standardisierten Bedingungen untersucht. Als Neuerung gegenüber den bisherigen, in der Literatur beschriebenen, Untersuchungen wurde zur herkömmlichen kontaminierten Getreideration eine halbsynthetische Diät, unter Ausschluß jeglicher Getreidekomponente, zusammengestellt. Die Kontamination der Komponenten dieser halbsynthetischen Ration mit *Fusarien* war natürlicherweise auszuschließen. Die Versuchstiere wurden bis Versuchsbeginn gänzlich toxinfrei gefüttert. Die Haltung der Tiere wurde so gestaltet, dass eine unerwünschte Toxinkontamination (z. B. über Einstreu) ausgeschlossen war.

Es wurde eine künstlich kontaminierte Ration zusammengestellt, die keinerlei weitere potentiellen Toxinquellen enthielt. Ein weiterer entscheidender Faktor, nämlich der Einfluß einer restriktiven gegenüber einer Fütterung ad libitum, konnte ebenfalls im Rahmen des Versuchs geprüft werden.

Um über die reinen Leistungsparameter (Wachstum, Futteraufnahme) hinausgehende Wirkungen erfassen zu können, wurden weitere Parameter (Stoffwechselphysiologie, Immunglobuline) in die Untersuchung mit einbezogen. Dies geschah insbesondere vor dem Hintergrund, eventuell Rückschlüsse ziehen zu können auf eine potentielle Gefährdung des Menschen durch chronische Aufnahme geringster Mengen des Toxins über die Nahrung. Es gibt Hinweise auf möglich Zusammenhänge zwischen der immunvermittelten Bergerschen Nierenerkrankung (BERGER; 1969) und einer durch DON ausgelösten IgA-Anreicherung in der Niere (DONG et al.; 1991, ROTTER et al.; 1996).

Desweiteren sollte nach einer Möglichkeit gesucht werden, eine Toxinexposition direkt am Tier nachweisen zu können. Da die toxikologische Analyse der Futtermittel, gerade im unteren Kontaminationsbereich, nicht zwingend mit klinischen Erscheinungen bzw. Leistungseinbußen einhergehen muß, sollte u.a. ein Parameter ermittelt werden, anhand dessen eine potentielle Beeinträchtigung bereits vor ihrem Auftreten erkannt werden kann.

### 3 LITERATURÜBERSICHT

#### 3.1 Allgemeines

Mykotoxine sind für Mensch, Tier und Pflanze giftige Naturstoffe und werden aufgrund der weltweiten Verbreitung von Schimmelpilzen in zahlreichen Lebens- und Futtermitteln gefunden. Es handelt sich hierbei, neben den Antibiotika, um die zweite große, von diesen Mikroorganismen synthetisierte, Wirkstoffgruppe. Mehr als 400 Pilzmetabolite mit toxischer Wirkung werden der Gruppe der Mykotoxine mittlerweile zugeordnet, die jedoch nicht alle in der Nahrungskette auftreten. In Nahrungsmitteln regelmäßig und in höheren Konzentrationen gefunden werden bislang 20 Mykotoxine, die daher auch aus Sicht des Verbraucherschutzes Bedeutung besitzen.

Mykotoxine sind natürliche, sekundäre Stoffwechselprodukte niederer Pilze (Zygomycetes = Schimmelpilze) der Abteilung Eumycota, die aufgrund ihrer vielfältigen Wirkungen, abhängig von der chemischen Struktur, eine Gefährdung der menschlichen und tierischen Gesundheit darstellen. Das Ausmaß der Schadwirkung ist nicht ausschließlich bedingt durch die Toxinkonzentration, sondern ist auch abhängig von der Dauer der Toxineinwirkung.

In der Tierproduktion sind Mykotoxine in zweierlei Hinsicht relevant. Zum einen führen akute Intoxikationen zu massiven Krankheitserscheinungen mit hohen Verlusten (Turkey X-Disease, 1961 in England). Zum anderen bedeuten subakut/chronische Intoxikationen häufig große wirtschaftliche Verluste durch Wachstumsbeeinträchtigung und erhöhte Infektanfälligkeit. Die Kumulation im tierischen Gewebe und damit das carry-over toxischer Substanzen stellt eine Gefahr für die menschliche Gesundheit dar (Bsp.: *Ochratoxine*) (GAREIS; 1999).

Mykotoxine werden während des Wachstums von Schimmelpilzen in bestimmten Entwicklungsphasen gebildet, wobei das Ausmaß des Pilzwachstums keinen Rückschluß auf die gebildete Toxinmenge zuläßt. Die Fähigkeit zur Toxinbildung ist genetisch bestimmt. Die Synthesewege der Substanzen ähneln interessanterweise stark dem Amino- und Fettsäuremetabolismus (FINK-GREMMELS; 1999).

Die Toxinproduktion und damit die Kontamination von Lebens- und Futtermitteln ist abhängig von Umweltfaktoren wie Substratzusammensetzung, Feuchtigkeit und Temperatur, wobei oftmals nicht nur eine Substanz, sondern eine ganze Reihe chemisch verwandter Verbindungen gebildet wird (ENGELHARDT; 1999, FINK-GREMMELS; 1999). Da sekundäre Stoffwechselprodukte, im Gegensatz zu den Produkten des Primärstoffwechsels, nicht bei allen Organismen zu finden sind, dienen sie auch zur Charakterisierung ihres Produzenten (ENGELHARDT; 1999).

Allerdings besitzen nicht alle Schimmelpilze die Fähigkeit zur Toxinbildung. Aber von mehr als 250 Schimmelpilzarten ist bekannt, dass sie dazu in der Lage sind. Das Toxinbildungsvermögen innerhalb einer Art kann von Stamm zu Stamm stark variieren (ENGELHARDT; 1999, SMITH et al.; 2000, GAREIS; 1999). Die wichtigsten Mykotoxine sind *Aspergillus*-Toxine (Aflatoxin B1, G1, M1, Ochratoxin A, Sterigmatocystin, Cyclopiazonsäure), *Penicillium*-Toxine (Ochratoxin A, Citrinin, Patulin, Cyclopiazonsäure, Penitrem A), *Fusarium*-Toxine (Trichothecene, Zearalenon, Fumonisine, Moniliformin), *Alternaria*-Toxine (Tenuazonsäure, Alternariol, Alternariolmethylether) und die *Claviceps*-Toxine (Ergotalkaloide) (GAREIS; 1999).

Über die Funktion der Mykotoxinbildung ist bislang nicht viel bekannt. Es wird jedoch vermutet, dass sie einer Art metabolischen Kontrollfunktion (Suizid-Mechanismus) entspricht sowie eine ökologische Rolle bei Interaktionen mit anderen Organismen spielt. So haben hohe Mykotoxingehalte fungistatische oder gar fungizide Aktivität - und ebenso antibakterielle. Die Bildung von Mykotoxinen kommt einem Schutzmechanismus gleich, zur Verteidigung gegen Nahrungskonkurrenten, wie beispielsweise Bakterien (siehe Penicillin). Gleichzeitig bedeutet dies, dass pflanzliche Erzeugnisse, welche zum Zeitpunkt der Ernte nicht offensichtlich mit Schimmelpilzen befallen sind, durchaus zu einem früheren Zeitpunkt bereits mit Toxinen kontaminiert worden sein können (ENGELHARDT; 1999, FINK-GREMMELS; 1999).

Je nach Wachstumsbedingungen unterscheidet man Feld- und Lagerpilze. Während Feldpilze (z. B. *Fusarium*, *Claviceps*) auf einen Wassergehalt von über 20 % angewiesen sind, stellen die xerophilen Lagerpilze (z. B. *Aspergillus*, *Penicillium*) geringere Anforderungen an den Feuchtegehalt. Allerdings kann auch eine Feldpilzflora noch bis zu einem Wassergehalt von 16 % eingeschränktes Wachstum und geringe Stoffwechselaktivität zeigen, weshalb für die Getreidelagerung ein Feuchtegehalt von unter 15 % empfohlen wird (MÜLLER et al.; 1997a,b, SMITH et al.; 2000, LEPSCHY; 2001).

Weitere wichtige Einflußfaktoren für das Wachstum von Feldpilzen sind neben der Witterung auch die Bodenbearbeitung, die Düngung, die Fruchtfolge und der Einsatz von Fungiziden sowie die Wahl des Standortes und der verwendeten Sorte. Während die durch Lagerpilze bedingte Mykotoxinbildung durch konsequente Trocknung, trockene Lagerung und eine gute Belüftung gänzlich vermieden werden kann, ist der Befall von Getreide mit Feldpilzen bis zu einem gewissen Grad unvermeidlich (DÄNICKE et VALENTA; 1999, LEPSCHY; 2001).

In der heute üblichen landwirtschaftlichen Praxis gibt es aufgrund der komplexen Biologie von Infektion, Wachstum und Toxinbildung keine umfassende Strategie zur Vermeidung eines Pilzbefalls auf dem Feld, insbesondere gegenüber *Fusarien* (FINK-GREMMELS; 1999, D'MELLO; 1999).



### 3.2 Fusarien und Fusarientoxine

In der Getreideproduktion kommt den *Fusarium*-Arten die größte Bedeutung zu. Die meisten *Fusarium*-Arten sind Bodenpilze, die, neben der Fähigkeit zur Toxinbildung, hauptsächlich als wichtige Pflanzenpathogene Bedeutung haben (DÄNICKE et VALENTA; 1999, PLACINTA et al.; 1999). Schäden können in jedem Entwicklungsstadium der Pflanze, von der Aussaat bis zur Ernte, entstehen und u.a. zu verminderter Keimkraft des Saatgutes führen. Die größten Einbußen werden jedoch durch einen Ährenbefall (Weiß-/Taubährigkeit, FHB = *Fusarium* Head Blight) verursacht, hervorgerufen durch mangelnde Nährstoffversorgung an der Kornanlage. Die Infektion der Pflanze findet meist zum Zeitpunkt der Blüte statt, wobei insbesondere feuchtwarme Wetterlagen eine Infektion begünstigen (GILGENBERG-HARTUNG; 1999, FAO; 2001).

Neben den wirtschaftlichen Verlusten erlangen in den letzten Jahren zunehmend auch die gesundheitlichen Risiken durch eine begleitende Mykotoxinbelastung des befallenen Getreides Bedeutung. So schätzt die UN Food and Agriculture Organization (FAO), dass bis zu 25 % der Weltproduktion von Nahrungsmitteln mit Mykotoxinen kontaminiert sind. In der EU enthalten ungefähr 20 % der Getreideernten meßbare Mengen an Mykotoxinen (ENGELHARDT; 1999, FAO; 2001).

Die durch Mykotoxine hervorgerufenen Krankheitserscheinungen bezeichnet man als Mykotoxikosen. Sie treten wahrscheinlich sehr häufig auf, werden aber selten als solche erkannt. Krankheitsausbrüche treten meist saisonal auf auch in Abhängigkeit der Witterungsbedingungen. Oftmals läßt sich eine klare Beziehung zu einer bestimmten Futtermittelcharge erkennen. Die auftretenden Gesundheitsstörungen sind im Gegensatz zu infektiös bedingten Erkrankungen nicht übertragbar und eine antibiotische Therapie bleibt in der Regel erfolglos (DÄNICKE et VALENTA; 1999).

#### 3.2.1 Vorkommen und Bedeutung von Fusarien bzw. Fusarientoxinen

Pilzinfektionen mit *Fusarium*-Arten und die damit verbundene Belastung mit den gebildeten Toxinen haben in den gemäßigten Klimazonen Nordeuropas die höchste Prävalenz und werden auch regelmäßig in diesen Regionen Afrikas und Asiens gefunden (SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD (SCF); 1999).

Die von Fusarien gebildeten Toxine gliedern sich in drei Hauptgruppen: Trichothecene, Zearalenon und Fumonisine. Weltweit gelten Trichothecene als die dominierenden Mykotoxine in Weizen, Gerste und Mais. Sie werden von zahlreichen Vertretern der *fungi imperfecti* gebildet, wobei sie überwiegend von Spezies der Gattung *Fusarium* isoliert wurden (ENGELHARDT; 1999, PLACINTA et al.; 1999, SMITH et al.; 2000). Als wichtigste Vertreter der Trichothecene sind Deoxynivalenol (DON), Nivalenol (NIV), Diacetoxyscirpenol (DAS) sowie in kälteren Regionen auch T2- und HT2-Toxin zu nennen (RODEMANN; 1999).

DON ist weltweit das am häufigsten auftretende Mykotoxin, wobei als Hauptproduzenten *F. graminearum* und *F. culmorum* von Bedeutung sind (WHO; 1993, SCF; 1999). In den letzten zwei Jahrzehnten kam es in niederschlagsreichen Jahren regelmäßig zu Infektionen mit *F. graminearum* und *F. culmorum*. Zwischen dem Vorkommen der beiden Spezies und den klimatischen Bedingungen lässt sich ein deutlicher Zusammenhang erkennen. Während *F. graminearum* eher in wärmeren Gebieten (Nord-Amerika, Japan, China) zu finden ist, dominiert in kühleren Gegenden *F. culmorum* (Skandinavien, Nord-Europa). Das gemeinsame Auftreten von DON und seinen acetylierten Analoga (3-ADON, 15-ADON) oder anderen Fusariantoxinen wie NIV und ZEA ist häufig zu beobachten (WIDESTRAND et al.; 2001, FAO; 2001).

In Deutschland ist in erster Linie mit Infektionen durch *F. poae* (46 %), *F. avenaceum* (44 %) und *F. graminearum* (37 %) zu rechnen. Infektionen mit anderen *Fusarium*-Arten kommen zu einem deutlich geringeren Prozentsatz vor (ELLNER; 2000). Anhand einer Übersichtsstudie über 6 Jahre konnte im Südwesten Deutschlands DON als das überwiegend auftretende Toxin identifiziert werden.

Der Prozentsatz DON-positiver Proben bewegte sich zwischen 69 und 96 %, mit Gehalten von 152 im Jahr 1989 bis 1.691 µg DON/kg im Jahr 1987 (Tabelle 1). Auch in Gerste wurde DON, mit einer Inzidenz von 71 bis 98% und mittleren Gehalten von 42 bis 400 µg/kg, als das hauptsächlich auftretende Toxin identifiziert (MÜLLER et al.; 1997a, b).

Ebenso konnte bei Ernten aus dem Jahre 1999 DON als das hervortretende Toxin identifiziert werden. Es wurde in 45% der untersuchten Proben nachgewiesen und zwar jeweils mit den höchsten Gehalten im gesamten Kontaminationsspektrum (ELLNER; 2000).

**Tabelle 1** Häufigkeitsverteilung von DON in Weizenproben aus dem Stuttgarter Raum, Baden-Württemberg (MÜLLER et al.; 1997a, b)

<b>Toxingehalt [mg/kg]</b>	<b>Anteil DON-kontaminierter Proben [%]</b>					
	<b>1987</b>	<b>1989</b>	<b>1990</b>	<b>1991</b>	<b>1992</b>	<b>1993</b>
<100	42	69	26	54	45	51
100-500	19	27	43	32	37	36
>500-1000	14	3	15	5	16	7
>1000-2000	12	1	12	4	1	2
>2000-5000	4	0	1	5	0	2
>5000	9	0	3	0	1	2

**Tabelle 2** Fusariumtoxine in getreidehaltigen Nahrungsmitteln aus dem Südwesten Deutschlands.  
<sup>(1)</sup> basierend auf einer Gesamtzahl von 96, 29, 32 bzw. 25 Proben in den Gruppen A, B, C bzw. D (SCHOLLENBERGER et al.; 1999)

<b>Nahrungsmittel</b>	<b>Toxin</b>	<b>pos. Proben [%]<sup>(1)</sup></b>	<b>Toxinmenge in pos. Proben [<math>\mu\text{g/kg}</math>]</b>		
			<b>Bereich</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Median</b>
Brot u. ä. Produkte (A)	DON	80 (83)	15-788	92 $\pm$ 102	62
	NIV	2 (2)	67-169	118 $\pm$ 51	
	3-ADON	1 (1)	11	11	
	15-ADON	0			
	FUS-X	0			
	HT-2	13 (14)	12-32	16 $\pm$ 6	12
	T-2	1 (1)	4	4	
Nudeln (B)	DON	27 (93)	15-1670	158 $\pm$ 334	62
	NIV	1 (3)	28	28	
	3-ADON	0			
	15-ADON	1 (3)	28	28	
	FUS-X	0			
	HT-2	8 (28)	12-25	13 $\pm$ 5	12
	T-2	0			
Frühstückscerealien (C)	DON	18(56)	15-238	75 $\pm$ 72	53
	NIV	0			
	3-ADON	4 (13)	16-40	25 $\pm$ 10	
	15-ADON	9 (28)	15-37	23 $\pm$ 9	
	FUS-X	0			
	HT-2	10 (31)	12-22	13 $\pm$ 3	12
	T-2	2 (6)	4-7	6 $\pm$ 2	
Baby-/Kindernahrung (D)	DON	15 (60)	15-314	61 $\pm$ 86	23
	NIV	0			
	3-ADON	1 (4)	11	11	
	15-ADON	0			
	FUS-X	0			
	HT-2	1 (4)	12	12	
	T-2	0			

Fusariumtoxine spielen jedoch nicht nur in der Tierernährung bzw. hinsichtlich wirtschaftlicher Faktoren eine Rolle, auch das gesundheitsgefährdende Potential durch eine Toxinbelastung getreidehaltiger Lebensmittel ist nicht zu unterschätzen. Aufgrund der Kontamination der heimischen Getreide und der hergestellten Erzeugnisse, stehen Belastungen mit DON und ZEA im Vordergrund.

Da es sich bei Fusarientoxinen (Trichothecene) um äußerst stabile Substanzen handelt, welche Vorgänge wie Mahlen, Backen und andere Prozessen im Rahmen der Nahrungsmittelherstellung unbeschadet überstehen, kommt es durch kontaminiertes Getreide auch zu einer Toxinbelastung des daraus hergestellten Lebensmittels. So konnten bereits in einer Vielzahl von getreidehaltigen Nahrungsmitteln (Brot, Nudeln, Cerealien) und sogar in Baby- und Kleinkindnahrung beachtliche Mengen an Toxinen gemessen werden (Tabelle 2) (SCHOLLENBERGER et al.; 1999, WOLF-HALL et al.; 1999).

### 3.2.2 Deoxynivalenol

#### 3.2.2.1 Struktur und chemische Eigenschaften

DON wurde erstmals von japanischen Wissenschaftlern als sog. "Rd-Toxin" aus *Fusarium*-befallener Gerste (MOROOKA et al.; 1972) und später aus *Fusarium*-infiziertem Mais aus Nordwest-Ohio (VESONDER et al.; 1973 & 1976) isoliert. Die Substanz wurde als Trichothecen identifiziert, und aufgrund ihrer emetischen Wirkung beim Schwein erhielt sie den Namen "Vomitoxin" (ROTTER et al.; 1996).

Die Gruppe der Trichothecene umfaßt über 148 chemisch verwandte Substanzen, die von *Fusarien* und verwandten Pilzen gebildet werden. Allesamt sind es eng verwandte tricyclische Sesquiterpene auf der Basis eines C<sub>15</sub>-Gerüsts (Abbildung 1) (EHLING et al.; 1997, WIDESTRAND; 2001).

Die Klassifizierung in vier Gruppen A, B, C und D erfolgt anhand bestimmter chemischer Merkmale, die sich auch in Toxizität und biologischer Aktivität niederschlagen. Grundsätzlich verantwortlich für die allgemein toxische Wirkung von Trichothecen ist die Doppelbindung zwischen C<sub>9</sub> und C<sub>10</sub> sowie der Epoxidring an C<sub>12,13</sub>.

Die spezifische Toxizität der vier Untergruppen dagegen ist abhängig von der Struktur der Seitenketten am Molekül. Trichothecene des Typs A (T2-Toxin, HT2-Toxin) zeichnen sich durch einen Hydroxyl-/ Hydrogen- oder Isovaleryl-Rest an Position C<sub>8</sub> aus, während sich bei Trichothecen des Typs B (DON, NIV) an dieser Stelle eine Carbonylgruppe befindet. Substanzen der Typ A-Trichothecene weisen eine wesentlich höhere Toxizität auf als Vertreter des Typs B.

Charakteristisch für Typ C-Trichothecene ist eine zweite Epoxid-Gruppe an Position C<sub>7,8</sub> oder C<sub>9,10</sub>. Vertreter des Typs D weisen einen über Ester mit C<sub>4</sub> und C<sub>5</sub> verbundenen makrozyklischen Ring auf.

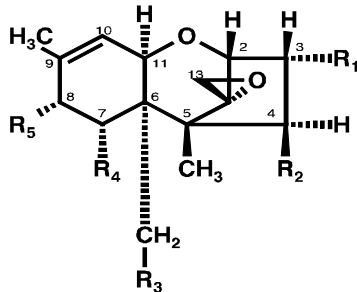
Die Löslichkeit der Substanzen ist abhängig vom Polarisationsgrad. Im allgemeinen lösen sich diese Toxine aufgrund ihrer polaren Struktur in organischen Lösungsmitteln wie Aceton, Chloroform oder Ethylacetat, wobei sich farblose, optisch aktive, Lösungen ergeben. Stark hydroxylierte Vertreter wie DON und NIV lösen sich dagegen auch in polaren Lösungsmitteln. DON selbst hat ein Molekulargewicht von 296,32 D.

Es bildet in kristalliner Form feine, weiße Nadeln, welche sich in Ethanol, Methanol, Ethylacetat und Chloroform lösen, aber auch sehr gut in Wasser (EHLING et al.; 1997, WIDESTRAND; 2001).

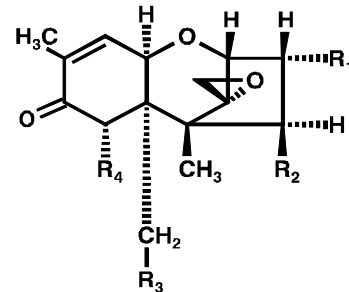
## a) Klasse A-Trichothecene

## b) Klasse B-Trichothecene

Typ A



Typ B



A	T2-Toxin	HT2-Toxin
R 1	OH	OH
R 2	OAc	OH
R 3	OAc	Oac
R 4	H	H
R5	OCOCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OCOCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>

B	DON	NIV
R 1	OH	OH
R 2	H	OH
R 3	OH	OH
R 4	OH	OH

Abbildung 1 Trichothecen-Grundgerüst

## 3.3 Toxizität von Deoxynivalenol

Die Toxizitätsverhältnisse der Trichothecene vom Typ A und B wurden in zahlreichen Zellkulturtests und Tierversuchen untersucht. Die Reihenfolge hinsichtlich der Toxizität war hierbei, unabhängig vom verwendeten Testsystem, vergleichbar. Dagegen mußten deutliche Unterschiede hinsichtlich der Sensitivität des jeweils verwendeten Testsystems gegenüber den einwirkenden Substanzen verzeichnet werden. So wies T2-Toxin bei der Verwendung von Vero-Zellkulturen eine 1.300fach größere Toxizität auf als DON; in MIN-GL1 Zellen dagegen war sie 23.000fach, in K-562-Zellen 2.000fach und in BHK-21-Zellen 1.500fach höher (ROTTER et al.; 1996).

Das allgemeine Wirkungsprinzip der Trichothecene beruht auf einer Hemmung der Proteinbiosynthese auf ribosomaler Ebene. Voraussetzung hierfür ist eine intakte Doppelbindung an Position C<sub>9,10</sub> sowie die Epoxidgruppe an Position C<sub>12,13</sub> (EHLING et al.; 1997).

Durch Bindung von DON an die 60s Untereinheit eukaryonter Ribosomen kommt es zu einer Hemmung der Peptidyl-Transferase und somit zu einer Störung der Polypeptidketten-Verlängerung auf der Stufe der Elongation (ROTTER et al.; 1996, WIDESTRAND et al.; 2001). Auch die Bildung von DNA bzw. RNA sind hiervon betroffen.

Aus der Proteinsynthese-Hemmung resultiert, vermutlich sekundären Effekten zufolge, sowohl *in vitro* als auch *in vivo* eine Hemmung der DNA- und RNA-Synthese (ERIKSEN et ALEXANDER; 1998, WIDESTRAND et al.; 2001).

Darüberhinaus wird ein weiterer Schädigungsmechanismus auf zellulärer Ebene diskutiert. Durch Lipidperoxidation wird eine Änderung der Zellmembranfunktion vermutet. So führt DON, ähnlich wie T2-Toxin zu einer Hämolyse von Erythrozyten. Durch Zusatz von Antioxidantien läßt sich dies verhindern, wonach eine Beteiligung freier Radikale am Schädigungsprozeß zu vermuten ist.

*In vitro*-Tests an Lymphozyten haben auch gezeigt, dass DON, abhängig von der eingesetzten Dosis, der Herkunft der Lymphozyten bzw. des Gewebes und einer evt. Glucocorticoidwirkung, Apoptose induzieren oder verhindern kann. MEKY et al. (2001) konnten mittels *in vitro*-Versuchen zeigen, dass die Zugabe von DON zu einer Lymphozytenkultur negative Auswirkungen auf die Zellproliferation hat und zu einer veränderten Zytokinproduktion führt.

Im Gegensatz zu T2-Toxin, welches vermutlich aufgrund der deutlich höheren Lipophilie besser und weiter in das Zellinnere eindringen kann, beschränkt sich die Wirkung von DON wahrscheinlich mehr auf die äußeren Bereiche betroffener Zellen, woraus sich auch der große Toxizitätsunterschied beider Substanzen erklären ließe (ERIKSEN et ALEXANDER; 1998, WIDESTRAND et al.; 2001).

Die Wirkung von DON auf den Gesamtorganismus scheint jedoch von komplexer Natur zu sein und darüberhinaus sekundären Effekten zu unterliegen (ROTTER et al.; 1996, ERIKSEN et ALEXANDER; 1998). Nicht nur die aufgenommene Konzentration ist von Bedeutung, sondern auch die Dauer der DON-Exposition sowie die Spezies bestimmen den Grad der Schädigung. Die größte Sensitivität zeigen hierbei monogastrische Tiere (insbes. Schwein), wohingegen Tiere mit einem Vormagensystem eine höhere Toleranz gegenüber DON aufweisen. Die relative Unempfindlichkeit von Wiederkäuern ist auf die Umwandlung des Toxins in einen ungiftigen Metaboliten durch die aktive Vormagenflora zurückzuführen. Beim Geflügel dagegen scheint die sehr schnelle Darmpassage und damit die rasche Elimination des Toxins aus dem Organismus für eine gewisse "Toxinresistenz" verantwortlich zu sein (ROTTER et al.; 1996, EHLING et al.; 1997).

### 3.3.1 Allgemeine Wirkung von Deoxynivalenol beim Schwein

Die klinischen Symptome bei einer akuten DON-Intoxikation nach oraler oder intraperitonealer Toxinverbreichung reichen von Speicheln, Übelkeit und abdominalem Schmerz bis hin zu Erbrechen (ROTTER et al.; 1996; SCF, 1999, SMITH et al.; 2000). Die minimale emetische Dosis (MED) beträgt 50 µg DON/kg KM bzw. 20 mg DON/kg Futter (ROTTER et al.; 1996, ERIKSEN et ALEXANDER; 1998).

Nach akuten Intoxikationen wurden bei pathologischen Untersuchungen Nekrosen im Gastrointestinaltrakt sowie Veränderungen des Knochenmarks und der lymphatischen Gewebe gefunden. Ebenso ließen sich fokale Läsionen in Niere und Herzmuskulatur sowie Schädigungen des zentralen Nervensystems erkennen (ROTTER et al.; 1996). Die LD<sub>50</sub> bei Mäusen nach oraler Toxinverabreichung lag zwischen 78 mg/kg KM (B6C3F1-Maus) und 46 mg/kg KM (DDY-Maus) (SCF; 1999).

Subakute bis chronische Intoxikationen mit niedrigen Gehalten ( $\leq 5$  mg/kg) führen dagegen nur zu unspezifischen Symptomen wie reduzierte Futteraufnahme (Anorexie) und verzögerte Gewichtsentwicklung, Veränderungen der Serumgehalte einiger Blutparameter (inkl. Immunglobuline), evt. Hautirritationen und eine erhöhte Krankheitsanfälligkeit (ROTTER et al.; 1996, SCF; 1999).

In vielen Untersuchungen konnte aber zugleich auch eine gewisse Toleranzentwicklung beobachtet werden. Symptome wie verminderte Futteraufnahme und Verzögerung im Wachstum zeigten sich meist nur während der ersten Versuchstage. Im weiteren Verlauf kam es dann, je nach eingesetzter Toxinkonzentration, zu einer Erholung der Tiere mit einer teilweisen bis vollständigen Kompensation der anfänglichen Verluste (ROTTER et al.; 1996).

Aus den bisherigen Untersuchungen (v.a. natürlich konatminiertes Futter) zur Wirkung von Deoxynivalenol in verschiedenen Tierversuchen ließ sich bislang nicht festlegen, wieviel dieses Stoffes täglich von einem Menschen ohne Schädigung aufgenommen werden kann. So legte die Europäische Kommission für Gesundheit und Verbraucherschutz in Brüssel zum einen einen NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) von 0,1 mg/kg KM/Tag und einen tTDI, temporary Tolerable Daily Intake, von 1 µg/kg KM fest (SCF; 1999).

### 3.3.2 Toxische Effekte von Deoxynivalenol im Detail

#### 3.3.2.1 Inappetenz

Erstes Anzeichen einer subakuten bzw. chronischen DON-Intoxikation beim Schwein ist das Auftreten von Inappetenz und ein damit verbundener Einbruch in der Leistung (reduzierte Futteraufnahme, verminderte Gewichtsentwicklung). Inappetenz an sich ist als ein sehr unspezifisches Symptom anzusehen, zumal verschiedene Systeme hier ursächlich eine Rolle spielen können.

Zunächst steht der Gastrointestinaltrakt selbst im Vordergrund. Dieses Kompartiment ist allgemein als das erste Zielorgan für durch DON hervorgerufene Wirkungen anzusehen. Man geht davon aus, dass es unter DON-Einwirkung zu einer direkten Schädigung der Magen- bzw. Darmschleimhaut kommt (ROTTER et al.; 1996). Deutliche histopathologische Veränderungen wurden nach oraler Verabreichung bei Mäusen nachgewiesen. Es traten Veränderungen wie Nekrosen und fokale Degeneration der Oesophaguswand auf, daneben kam es zu signifikanten Läsionen in primären und sekundären lymphoiden Organen.

Neben einer verminderten Körpermasse wiesen betroffene Tiere auch entsprechend geringere Organgewichte auf (ARNOLD et al.; 1986).

Bei Schweinen wurden dagegen bislang nur verhältnismäßig wenig pathologische Befunde erhoben. Veränderungen stellten sich hier in erster Linie als Verdickung und stärkere Fältelung der Magenschleimhaut dar (ROTTER et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b). Allerdings berichteten TRENHOLM et al. (1994) auch von einer DON-bedingten Reduktion der Magenschleimhaut mit vereinzelt Erosionen.

Neben einer direkten Schädigung gastrointestinaler Organe durch DON, muß auch die Beeinflussung zentraler Steuerungssysteme, welche Appetit und Futteraufnahmeverhalten regulieren, in Betracht gezogen werden. Insbesondere das Serotoninsystem ist an lebenswichtigen Regulationsmechanismen wie z. B. Schlaf-/Wachrhythmus, Schmerzwahrnehmung und Hunger-/Sättigungsgefühl beteiligt. Serotonin – oder 5-Hydroxytryptamin (5-HT) – findet sich im Organismus in den enterochromaffinen Zellen des Gastrointestinaltraktes, in Thrombozyten und Mastzellen (Nager).

Im Gehirn fungiert es als Neurotransmitter, v.a. in den phylogenetisch älteren Arealen wie Hypothalamus und Mittelhirn. Seine Wirkung wird durch Stimulation spezifischer Rezeptoren vermittelt. Für keinen Transmitter sind so viele Rezeptortypen bekannt wie für Serotonin, und die Vielzahl der Subtypen (5-HT<sub>1</sub>(A-D), 5-HT<sub>2</sub> und 5-HT<sub>3</sub>) trägt eher noch zum Unverständnis der pharmakologischen Wirkungen und Mechanismen bei (FORTH et al.; 1992, LÖSCHER et al.; 1994, PRELUSKY; 1996).

Erste Hinweise für eine Beteiligung zentraler Steuerungsvorgänge lieferten 1988 FITZPATRICK und Mitarbeiter, indem sie nachweisen konnten, dass Trichothecene (DON, T2-Toxin) bei Ratten zu einer Erhöhung der Konzentration von biogenen Aminen (insbesondere 5-HT) im Gehirn führen. Weiterhin zeigten PRELUSKY und TRENHOLM (1993), dass sich durch eine Vorbehandlung mit einem 5-HT<sub>3</sub>-Antagonisten DON-induziertes Erbrechen beim Schwein verhindern läßt.

Zum einen stehen somit beide für DON charakteristischen Symptome (verminderte Futteraufnahme und Erbrechen) in direktem Zusammenhang mit einer erhöhten serotoninergen Aktivität im Gehirn. Zum anderen beeinflussen niedrige DON-Gehalte nachweislich die Konzentration von Neurotransmittern in der Zerebrospinalflüssigkeit (ZSF). Die Theorie der neurologisch bedingten Inappetenz wurde durch den Nachweis eines schnellen und anhaltenden Anstiegs von 5-Hydroxyindolessigsäure (5-HIAA), des Hauptmetaboliten im Serotonin-Stoffwechsel, untermauert.

Hohe Gehalte an 5-HIAA indizieren eine gesteigerte serotoninerge Aktivität im ZNS (SMITH;1992, PRELUSKY; 1993, SMITH; 2000). Bereits zwei Stunden nach intragastraler (i.g.) und intravenöser (i.v.) Verabreichung von DON kann mit einem Ansteigen von 5-HIAA in der ZSF gerechnet werden, wobei nach i.g. Verabreichung ein deutlich stärker ausgeprägter Effekt zu erwarten ist (PRELUSKY; 1993).



Der geschwindigkeitsbestimmende Faktor in der zentralen Serotonin-Synthese ist die Verfügbarkeit der Vorläufer-Aminosäure Tryptophan (FORTH et al.; 1992). Die Beeinflussung der zentralen 5-HT-Turnover-Rate ist auf verschiedenen Wegen möglich, z. B. durch eine vermehrte Aufnahme von Vorläufer-Aminosäure aus der Nahrung, durch eine direkte Synthese- oder Stoffwechsel-Steigerung und/oder durch eine vermehrte Ausschüttung bzw. Transmission von 5-HIAA in die ZSF (PRELUSKY; 1993).

Zunächst wurde angenommen, dass nicht eine direkte zentrale Wirkung von DON für die Steigerung der Serotonin-Aktivität im Gehirn verantwortlich ist. Vielmehr sollte dies die Folge anderer DON-bedingter pharmakologischer Effekte sein (PRELUSKY; 1994a). Derart erhöhte Serotonin-Gehalte im ZNS könnten die Folge einer Hyperaminoacidämie sein. Vermutlich kommt es durch eine trichothecenbedingte Hemmung der Proteinsynthese in der Leber zu einem Anstieg freier Aminosäuren im Blut, insbesondere von Tryptophan. Bei verschiedenen Spezies konnten tatsächlich durch erhöhte Blut-Tryptophan-Gehalte regional veränderte zerebrale Serotonin-Spiegel gemessen werden. Darüberhinaus wurden Veränderungen im Dopaminmetabolismus und damit weitere Anhaltspunkte für eine neuropharmakologische Beeinflussung des Futteraufnahmeverhaltens gefunden (SMITH; 1992, PRELUSKY; 1993, SMITH; 2000).

#### 3.3.2.2 Leistungseinbußen anderer Genese

Es ist naheliegend, dass Inappetenz und dadurch verminderte Futteraufnahmen mit Einbußen in Zuwachs und Gewichtsentwicklung einhergehen. Darüber hinaus muß aber auch in Betracht gezogen werden, dass es ebenso durch eine Beeinträchtigung biochemischer Verdauungsvorgänge bzw. eine mangelnde Bereitstellung von Substraten zur Schädigung von Zell- und Organfunktionen und damit sekundär zu Leistungseinbußen kommen kann. Hierbei steht besonders die Beeinträchtigung von Enzymen der Darmmukosa im Vordergrund, welche an oxidativen Vorgängen im Rahmen des Glutaminmetabolismus beteiligt sind. So ist z. B. nachgewiesen, dass eine Belastung mit Nivalenol (NIV) zu einer signifikanten Abnahme der  $\alpha$ -Ketoglutarat-Dehydrogenase-Aktivität (KGDH), verbunden mit einem tendenziellen ALT-Anstieg, führt (MADAJ et al.; 1999).

Das Enzym  $\alpha$ -KGDH ist als Komponente des mitochondrialen Tricarbonsäure(TCA)-Zyklus - oder Krebszyklus - unmittelbar an der Energiebereitstellung der Zelle beteiligt. Der TCA-Zyklus ist die "Drehscheibe" im Stoffwechsel von Pro- wie Eukaryonten und somit verantwortlich für den größten Teil der Kohlenhydrat-, Fettsäure- und Aminosäureoxidation sowie die Erzeugung zahlreicher Vorstufen für Biosynthesen. Das Enzym  $\alpha$ -KGDH ist also an der Zellatmung (Sauerstoffaufnahme in die Zelle) und damit an der Energieversorgung der Zellen beteiligt.

Eigentlich handelt es sich um einen Multienzymkomplex, bestehend aus  $\alpha$ -KGDH, Dihydrolipoyl-Transsuccinylase und Dihydrolipoyl-Dehydrogenase, der die oxidative Decarboxylierung von  $\alpha$ -Ketoglutarat zu Succinyl-CoA katalysiert.

$\alpha$ -KGDH ist gleichermaßen in Zytosol und Mitochondrien zu finden, wobei von einem Gleichgewicht zwischen beiden Kompartimenten ausgegangen wird. Die geschwindigkeitsbestimmenden Enzyme des TCA-Zyklus (Citrat-Synthase, Isocitrat-Dehydrogenase und  $\alpha$ -KGDH) werden fast ausschließlich durch drei Faktoren kontrolliert: Substratverfügbarkeit, Produkthemmung und kompetitive Rückkopplung. Als wichtigste Regulatoren treten hierbei die Substrate Oxalacetat und Acetyl-CoA und sein Produkt NADH in Erscheinung.  $\alpha$ -KGDH selbst wird ebenfalls stark durch seine Produkte Succinyl-CoA und NADH gehemmt.

Bei einer Hemmung des TCA-Zyklus kommt es zur Anhäufung von Oxalacetat und der Bildung eines Gleichgewichtes zwischen überschüssigem Oxalacetat und Malat. Malat wird aktiv aus den Mitochondrien hinaus transportiert und geht in die Glukoneogenese ein. Solche Zwischenprodukte können je nach Erfordernissen des Stoffwechsels in anderen Abbauwegen verbraucht oder nachgeliefert werden.

Die Transaminierung und Desaminierung von Aminosäuren ist beispielsweise ein solcher Abbauweg. Eine reversible Reaktion, die zur Produktion resp. zum Verbrauch von  $\alpha$ -Ketoglutarat und Oxalacetat führt. Das für diese Reaktion verantwortliche Enzym Alanin-Amino-Transferase (ALT, früher Glutamat-Pyruvat-Transaminase, GPT) katalysiert die Reaktion von  $\alpha$ -Ketoglutarat und L-Alanin zu L-Glutamat und Pyruvat.

Wird also die Glukoseaufnahme über den Darm reduziert, so kommt es durch eine gesteigerte ALT-Aktivität zu einem Anstieg von Alanin. Dieses kann dann in der Leber in die Glukoneogenese eingehen und somit ein Energiedefizit (verminderte  $\alpha$ -KGDH-Aktivität/Glukosemangel) ausgleichen (VOET et VOET; 1992). Auf diesem Wege wäre eine direkte Wirkung von DON auf die Leistungsfähigkeit des Schweines in Bezug auf Wachstum und Gewichtsentwicklung durch Beeinflussung zellulärer bzw. mitochondrialer Stoffwechselsysteme zu erklären.

### 3.3.2.3 Wirkung von Deoxynivalenol auf das Immunsystem

#### *Zelluläre Abwehr*

Zur Gruppe der Fusarientoxine gehören einige der potentesten Protein-Synthese-Inhibitoren. So erzeugen Fusarientoxine schwere Schäden in regenerativem und damit proliferativ aktivem Gewebe wie Knochenmark, Lymphknoten, Milz, Thymus und intestinaler Mukosa (PESTKA et BONDY; 1990). Das Wirkungsspektrum ist sehr breit und reicht von Störungen der Infektabwehr bis hin zu massiven Störungen der Immunantwort sowie zellulärer Funktionen (THURSTON et al.; 1986).

Bezüglich seines Einflusses auf das Immunsystem, ist die Wirkung von DON eher als ambivalent im Sinne einer Immunmodulation zu verstehen. So führt das Toxin einerseits zu einer Immunsuppression, während andererseits gleiche Konzentrationen das Immunsystem auch stimulieren können.

Unter DON-Einwirkung besteht nachweislich eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber viralen und bakteriellen Infektionen. Möglicherweise wird somit häufig eine ursächlich zugrunde liegende Intoxikation durch krankheitsbedingte Symptome verschleiert oder gar nicht erkannt (ROTTER et al.; 1996).

Es konnte beispielsweise beobachtet werden, dass eine gleichzeitige Verabreichung von Lipopolysacchariden (LPS = Zellbestandteile Gram-negativer Bakterien) und Trichothecenen zu einer gesteigerten Sensitivität hinsichtlich der LPS-Exposition führt. Im Gegenzug potenziert eine gemeinsame Verabreichung mit LPS die Toxizität von Trichothecenen. Somit läßt sich unter Toxineinfluß einmal eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Infektionen mit Gram-negativen Erregern und im Gesamten eine konzentrationsabhängige Schwächung der unspezifischen Abwehr ableiten. Das Immunsystem muß so, neben dem Gastrointestinaltrakt, als primäres Targetorgan interaktiver Effekte angesehen werden (PESTKA et BONDY; 2000, ZHOU et al.; 2000).

#### *Humorale Abwehr*

Die Wichtigkeit von Untersuchungen über das Schädigungspotential von Mykotoxinen wird deutlich, betrachtet man mögliche Zusammenhänge zwischen der beim Menschen auftretenden IgA-Nephropathie und dem *Fusarien*-Toxin DON.

Bei dieser, von BERGER et HINGLAIS (1968) erstmals beschriebenen chronischen Entzündung der Nieren, handelt es sich um eine mesangioproliferative Glomerulonephritis. Sie ist mit 50 % die am häufigsten auftretende Nephritisform überhaupt (BERGER et HINGLAIS; 1968, BERGER; 1969). Schätzungen zufolge liegt insgesamt in 40 % aller auftretenden Glomerulonephritiden und 10 % der Dialyse-Fälle eine IgA-Nephropathie zugrunde (PESTKA et al.; 1989).

Die kausalen Zusammenhänge für die Entstehung einer IgA-Nephropathie beim Menschen sind noch weitgehend ungeklärt. Nach heutigem Stand der Forschung kommt der Inaktivierung von T-Suppressor-Zellen eine bedeutende Rolle zu.

Nahrungsmittelbestandteile (sog. Antigene), die den Verdauungstrakt passieren, können von dort ansässigen speziellen Zellen (Makrophagen), den sogenannten Antigen-präsentierenden Zellen (APC) aufgenommen und verarbeitet werden. Anschließend wird das Antigen auf der Oberfläche dieser APC in Kombination mit einem bestimmten Erkennungsmolekül (MHC-Klasse II-Molekül) präsentiert. Interaktionen zwischen APC und Lymphozyten führen zu Interleukin-Ausschüttung, wodurch B-Lymphozyten zu Antikörper-produzierenden Plasmazellen transformiert werden. Eine humorale Antwort mit Antigenproduktion wird ausgelöst.

Entscheidende Regulationsfunktionen besitzen hierbei T-Helfer(CD4<sup>+</sup>)- und T-Suppressor(CD8<sup>+</sup>)-Zellen, deren Mengenverhältnis im Blut als Ausdruck unterschiedlicher Immunreaktivität zu werten ist.

Normalerweise wird durch die Aktivierung der Suppressor-T-Lymphozyten (CD8<sup>+</sup>) eine lokale Restriktion der Immunantwort gewährleistet und somit eine systemische Reaktion verhindert (STÜNZI et WEISS; 1990).

In zahlreichen immunologischen Untersuchungen konnten durch DON nahezu dieselben Veränderungen hervorgerufen werden, wie sie auch bei der humanen IgA-Nephropathie zu finden sind (PESTKA et al.; 1989, PESTKA et BONDY; 1990, DONG et al.; 1991, RASOOLY et PESTKA; 1994, YAN et al.; 1998, BANOTAI et al.; 1999a). Die orale Aufnahme von DON (25 mg/kg Futter) führt bei Mäusen zunächst zu einer Verschiebung der Immunglobulin-Isotypen-Verteilung.

Liegt im Serum normalerweise IgG als primärer Isotyp vor, so kommt es unter DON-Einfluß zu einem Anstieg von IgA, was zu einem Antigen-Shift mit IgA als primär dominierendem Isotyp im Serum führt (PESTKA et BONDY; 1990). Ebenso verursachen auch niedrige, oral verabreichte Dosen NIV erhöhte Serum-IgA-Gehalte (HINOSHITA et al.; 1997).

Das im Serum als Komplex (Dimer) vorliegende IgA, bestehend aus zwei zusammengelagerten Einzelmolekülen, bleibt im Filtrationsapparat der Niere förmlich hängen. Resultierend aus einer Erhöhung der Serum-Konzentration kommt es also durch mesangiale Ablagerung und Akkumulation von IgA-Komplexen zu einer Schädigung der Nieren mit dem klinischen Bild der Hämaturie (DONG et al.; 1991, YAN et al.; 1998).

Der einzige Unterschied zur IgA-Nephropathie des Menschen besteht in den Gehalten von IgM und IgG. Während diese beim Menschen ebenfalls erhöht sind, bleiben sie bei der DON-induzierten Nephropathie der Maus unverändert. Hier liegen die IgM und IgG-Konzentrationen sowohl im Serum als auch im Mesangium im Normbereich (DONG et al.; 1991, PESTKA et al.; 1989).

In einer diesem Projekt vorausgegangenen Untersuchung konnte erstmals unter praxisnahen und standardisierten Bedingungen gezeigt werden, dass auch beim Schwein unter DON-Einwirkung (niedriger Konzentrationsbereich) mit erhöhten IgA-Gehalten im Serum zu rechnen ist. Hierbei ergab sich für IgA ein signifikanter zeit- und dosisabhängiger Anstieg, wohingegen die Gehalte IgM und IgG, wie bei der Maus, unbeeinflusst blieben (GÖTZ; 2003, DROCHNER et al.; 2004).

Der Einfluß von DON auf humorale Abwehrmechanismen stellt sich also in einer Erhöhung der IgA-Konzentration im Serum und somit in Form einer Antigen-Verschiebung dar (FORSELL et al.; 1986). Weshalb es zu einer solchen immunologischen Entgleisung kommt, ist bislang nicht geklärt, denn aufgrund seiner Molekülgröße von 296 D ist DON eigentlich nicht als immunogen anzusehen (DONG et al.; 1991). Andere, ebenfalls oral aufgenommenen Antigene (z. B. Cholera-Toxin) haben keinerlei vergleichbare immunogene Wirkung (PESTKA et al.; 1990).

Wie bereits oben berichtet, induziert das Antigen DON im lymphatischen Gewebe des Darmes, den sogenannten PEYERSCHEN Platten (bes. zahlreich in Ileum und Zäkum), die Proliferation von T-Zellen sowie die terminale Differenzierung von B-Zellen zu IgA-Progenitorzellen. Nach ihrer Wanderung über Mesenteriallymphknoten und den Ductus thoracicus gelangen die nun IgA-produzierenden Plasmazellen über das systemische Kompartiment zurück zur Lamina propria des Darmes und anderer Schleimhäute. Somit sind die PEYERSCHEN Platten als Ursprungsort für die IgA-Produktion anzusehen.

Es handelt sich hierbei um eine echte Dysregulation, da IgA ein natürlicher Bestandteil der lokalen Abwehr von Schleimhäuten ist und im Serum normalerweise nur transiente Konzentrationsanstiege zu finden sind (PESTKA et BONDY; 1990).

Neben einer direkten antigenen Wirkung von DON könnten aber auch die Präsentation von Futtermittel- oder Bakterien-Antigenen mit einer gesteigerten antigengerichteten B- und T-Zellantwort für die immunologische Reaktion verantwortlich sein. Trichothecene hemmen, wie bereits beschrieben, die Proteinbiosynthese. Die Lymphozytenproduktion dagegen wird konzentrationsabhängig stimuliert oder erniedrigt.

Unter DON-Einwirkung kommt es u.a. auch zu einer Erhöhung der Zytokinproduktion (IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ ). Vermutlich führt der Wegfall eines labilen Repressor-Proteins, welches die mRNA-Formation für die Zytokinexpression kontrolliert, zu einer gesteigerten Produktion von Interleukinen und TNF $\alpha$  mit einer daraus resultierenden, nicht angemessenen Aktivierung von T- und B-Zellen (DONG et al.; 1991, ZHOU et al.; 1999).

Neue *in vitro*-Untersuchungen bestätigen, dass es unter DON-Einwirkung zu einer Hemmung der Lymphozytenproliferation kommt. Begleitend kann ein verändertes Zytokinprofil der unter Toxineinfluß stehenden Zellen gemessen werden. Bereits bei einer DON-Dosis von 200 ng/ml erfährt die IL-2-Produktion eine bis zu 25-fache Steigerung. Dagegen wird die IL-6-Produktion sogar leicht vermindert und ein leichter Anstieg von INF $\gamma$  konnte festgestellt werden (MEKY et al.; 2001).

Ebenfalls in neueren Untersuchungen wurde unter gleichzeitiger DON- und LPS-Exposition eine Erhöhung der TNF $\alpha$ -Gehalte und der Glukokortikoidspiegel festgestellt.

DON führt also, in Abhängigkeit der Konzentration, zu einer Superinduktion von TNF $\alpha$  und IL-6 in stimulierten Makrophagen und folglich zu einer Hemmung bzw. Verstärkung apoptotischer Vorgänge in lymphatischem Gewebe (PESTKA et BONDY; 2000; ZHOU et al.; 2000). Darüberhinaus lassen sich in den Peyerschen Platten und in geringerem Ausmaß auch in der Milz, neben den IgA-produzierenden Plasmazellen auch vermehrt T-Zellen und ein erhöhtes CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-Verhältnis, d.h. ein Überschuß an T-Helferzellen, feststellen (PESTKA et BONDY; 1990).

#### 3.3.2.4 Andere Blutparameter

Über den Einfluß von DON auf andere meßbare Parameter im Blut, wie zelluläre Bestandteile, Substrate, Enzyme, Proteine und Hormone, ist bislang noch wenig bekannt. In erster Linie konnten Veränderungen der Serumproteingehalte, des Albumin/Globulin-Verhältnisses, der Kortisol- und Thyroxinspiegel erfaßt werden (ROTTER et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b, ROTTER et al.; 1995).

Bei Untersuchung der Schilddrüsenaktivität waren jedoch keine einheitlichen Ergebnisse zu erzielen. So konnte einerseits eine Erhöhung der T4-Gehalte erfaßt werden (ROTTER et al.; 1994), wohingegen andere keine Veränderung beobachten konnten (PRELUSKY et al.; 1994b). Schilddrüsenhormone sind für die Steuerung der Stoffwechselaktivität verantwortlich.

Nach Jodination und Jodisation in den Thyreozyten werden sie zunächst in Vesikeln der Zellen gespeichert. Bei Bedarf werden dann Trijodtyronin (T3) und Thyroxin (T4) aus den Vesikeln in das Kapillarblut freigegeben. Dort binden sie zum größten Teil an Transportproteine, können aber auch frei vorliegen (fT4/fT3).

Das hormonell aktivere Molekül ist T3. T4 kann als Prohormon aufgefaßt werden, denn der größte Teil an T3 stammt nicht aus der Schilddrüse selbst, sondern wird bedarfsgerecht erst in der Peripherie durch Monodejodierung aus T4 gebildet.

Um eine Funktionsstörung der Schilddrüse erfassen zu können, liefert somit die Untersuchung der T4-Werte mehr Hinweise als eine direkte T3-Bestimmung (KRAFT et DÜRR; 1999).

Bei den im Blutbild festgestellten Abweichungen, wie z. B. Erniedrigungen bzw. Erhöhungen der Gesamtleukozytenzahl, handelte es sich lediglich um transiente Veränderungen, die auch nur in einzelnen Untersuchungen erfaßt werden konnten (ROTTER et al.; 1994 & 1995).

### 3.4 Pharmakokinetik

Untersuchungen zur Pharmakokinetik von DON scheiterten oft mangels geeigneten radioaktiven Materials. Somit konzentrierten sich solche Studien zunächst hauptsächlich auf Rückstandsuntersuchungen.

Dabei wurde deutlich, dass DON im Organismus nicht kumuliert. So waren z. B. nach Verfütterung eines belasteten Futters (18 mg DON/kg) an Lege- und Masthühner über 35 Tage keine Rückstände in Leber, Herz, Niere oder Muskulatur sowie in den Eiern nachweisbar. Ein Übergang von DON in die Milch findet nachweislich nicht statt (SWANSON et CORLEY; 1989, BAUER; 1995).

Sowohl nach intravenöser Gabe als auch nach direkter intragastraler Verabreichung wird das Toxin sehr schnell resorbiert (PRELUSKY et al.; 1987). Die Halbwertszeit nach Aufnahme von DON in einem mit Wasser angerührten Futtermehl (Futter/Wasser 1:2, restriktive Fütterung) konnte mit 1,8 Stunden ermittelt werden, wohingegen die festen Bestandteile mit einer HWZ von 4,8 Stunden im Magen verweilen.

Diese schnelle Passage läßt vermuten, dass DON mit der flüssigen Phase der Nahrung in den proximalen Dünndarm gelangt. Weniger als 1% der aufgenommenen DON-Menge verbleibt nach 3,4 Stunden (max. Peak) noch im Darmsegment. Bis 15 Stunden nach der Futteraufnahme ist kein DON mehr im proximalen Darmsegment nachzuweisen. Dies deckt sich mit gemessenen Serum-Konzentrationen mit einem maximalen Peak 4,1 Stunden nach der Toxinaufnahme (DÄNICKE et al.; 2003).

Auffallend ist dabei, dass - bezogen auf Nivalenol - bei weniger empfindlichen Spezies deutlich langsamere Absorptionsraten zu verzeichnen sind (HEDMANN et PETTERSSON; 1997). Bei einem Verteilungsvolumen von  $V_d = 1,34 \text{ ml/min/kg}$  ( $V < 0,2 \text{ l/kg}$ ) ist anzunehmen, dass nur mit einer begrenzten Verteilung des Toxins im Organismus (vorrangig extrazellulär) zu rechnen ist (PRELUSKY et al.; 1987, FORTH et al.; 1992, LÖSCHER et al.; 1994).

Die anschließende Elimination erfolgt dagegen sehr langsam (ca. 510 min). Die Plasma-Halbwertszeit beträgt 2,1 bis 3,9 Stunden und variiert in den verschiedenen Geweben zum Teil erheblich. Bislang konnte ein biphasischer Metabolismus für Trichothecene nachgewiesen werden, wobei in der ersten Phase Oxidations- und Hydrolysereaktionen, ausgelöst durch pH-Wert-Absenkung im Magen, dominieren, während in der zweiten Phase die Transformationsprodukte an Glucuronsäure konjugiert werden (BAUER; 1995).

Eine Metabolisierung des Toxins, wie bei anderen Trichothecenen, findet hier nur in äußerst geringem Ausmaß statt. Vielmehr werden über 95 % in unveränderter Form, primär über den Harn (86 bis 104 %), wieder ausgeschieden. Die Elimination über die Gallenflüssigkeit ist mit 3 bis 5 % nahezu vernachlässigbar (PRELUSKY et al.; 1987).

Die enterale Transformation von DON dagegen scheint eine bedeutend größere Rolle zu spielen. Erstmals wurden Transformationsvorgänge von YOSHIZAWA und Mitarbeitern (1983) bei einer Untersuchung an Ratten entdeckt. In Urin und Fäzes der Tiere konnte der DOM-1 genannte deepoxidierte Metabolit nachgewiesen werden (HE et al.; 1992).

Der GIT ist die maßgebliche Eintrittspforte für xenobiotische Stoffe bei Tier und Mensch. Der bakteriellen Besiedlung des Darmes kommt daher bei der Metabolisierung von Mykotoxinen eine große Rolle zu. Durch peristaltische Aktivität ist die bakterielle Besiedlung im Dünndarm sehr gering und im Hinblick auf Metabolisierungsvorgänge vernachlässigbar. Erst in den hinteren Darmabschnitten (v.a. Colon) ist eine hohe Transformationsaktivität meßbar.

Im Darmlumen kommt es durch mikrobielle Vorgänge zu einer Reduktion der Epoxidgruppe an Position C12,13. Diese Umwandlung kommt einer Entgiftungsreaktion gleich, da DOM-1 deutlich weniger toxisch ist als die Ausgangssubstanz, wie Zellkultur-Tests (MTT-Test mit Nierenepithel von Schwein als Targetzelle) bestätigen (KOLLARZCIK et al.; 1994, BAUER et al.; 1995).

Dass tatsächlich Mikroorganismen hierfür verantwortlich zeichnen, wurde von HEDMANN und PETTERSSON (1997) bestätigt, da sich durch eine perorale antibiotische Therapie diese Deepoxidierungsvorgänge im Darm massiv reduzieren lassen (HEDMANN et PETTERSSON; 1997). Die Fähigkeit zur Detoxifizierung von DON auf diesem Weg scheint jedoch nicht grundsätzlich bei jeder Tierart vorhanden zu sein, da sich nicht immer Transformationsprodukte nachweisen ließen (SWANSON et al.; 1988, HE et al.; 1992).

Für Entgiftungsvorgänge im Darmlumen scheint die eingesetzte Toxinkonzentration zunächst unwichtig zu sein. Größere Bedeutung kommt eher dem pH-Wert von <5,2 im Darmlumen zu. Der Einfluß der Toxinkonzentration könnte sich vielmehr in der Metabolisierungsgeschwindigkeit niederschlagen. Bei reichlicher Substratmenge ist durch eine erhöhte mikrobielle Enzymaktivität eine Stimulierung der Deepoxidierungsvorgänge möglich. Vermutlich zeichnet eine spezielle Epoxyreduktase für die Deepoxidierung verantwortlich. Da sich die Transformationsvorgänge durch einen Elektronentransport-Blocker hemmen lassen, ist anzunehmen, dass es sich hierbei um einen energieabhängigen Prozeß handelt (HE et al.; 1992).

Fraglich ist, ob eine Metabolisierung im Darm zu einer Reduktion der Toxinwirkung im Tier selbst führen kann. Die sehr schnelle und vollständige Resorption aus dem Magen und den vorderen Darmabschnitten steht dem entgegen (DÄNICKE et al.; 2003).

Interessant erscheint unter diesem Aspekt der „Gewöhnungseffekt“ mancher Tiere (Schweine). Es ist schwer zu erklären, wie eine Darmflora diese Metabolisierungsfähigkeit erwerben kann, da einerseits aufgrund der vollständigen Toxinresorption in weiter vorne liegenden Darmabschnitten nahezu kein DON in den unteren Darmabschnitt gelangt. Der Großteil der Toxinmenge wird bereits aus dem Magen resorbiert. Allerdings ist nicht auszuschließen, dass in der Gallenflüssigkeit nachweisbares DON über den Galleabfluß erneut in den Darm gelangt und hier wiederum den Mikroorganismen zur Verfügung steht (PRELUSKY et al.; 1987, HEDMANN et PETTERSSON; 1997, DÄNICKE et al.; 2003).

Neben den Entgiftungsreaktionen im Tier selbst, gewinnt die Deepoxidierung im Rahmen der Dekontamination von Futtermitteln Bedeutung. Somit könnten kontaminierte Rohstoffe mittels mikrobiologischer Methoden einer Entgiftungsbehandlung unterzogen werden und stünden hiernach als "sicheres" Futtermittel der Tierproduktion wieder zur Verfügung.



Es wurde bereits eine Bakterienart isoliert, welche über die Fähigkeit zur Umwandlung des C12,13 Epoxidrings in ein Dien verfügt. Es handelt sich hierbei um ein Gram-positives, nichtsporulierendes, strikt anaerob lebendes, Eubakterium. Für *in vitro*-Versuche wurde das Bakterium in Rumenflüssigkeit als natürlichem Habitat bei 37°C mit 50 mg/kg DON inkubiert. Bei einer Bakterienmenge von  $3,55 \times 10^6$  CFU/g war bereits nach 24 Stunden die eingesetzte Toxinmenge vollständig transformiert (BINDER et al.; 2000).

Zu bedenken ist hierbei allerdings, dass es sich um ein anaerobes Bakterium handelt, und somit eine Umsetzbarkeit dieser Erkenntnis zur Anwendung in der Praxis sehr schwierig erscheint.

### **3.5 Wirkung von Deoxynivalenol beim Schwein – bisherige Ergebnisse**

Bislang wurden zahlreiche Fütterungsversuche zum Einfluß von DON beim Schwein, hauptsächlich im Hinblick auf Leistungsbeeinträchtigungen, durchgeführt. Im Blickpunkt standen hierbei in erster Linie die Entwicklung der Körpermasse, die täglichen Zunahmen und letztlich das erreichte Schlachtkörpergewicht.

Nach wie vor jedoch ist die Erstellung einer einheitlichen Dosis-Wirkungs-Beziehung, wie für andere Mykotoxine, nicht möglich. Während beispielsweise für Dicumarol, einem der ersten bekannten Mykotoxine, gesichert ist, dass die einmalige Verabreichung einer Dosis von bis zu 20 mg/kg ohne Folgen bleibt, dagegen eine Dosis von 60 mg/kg zu schweren Intoxikationserscheinungen führt, läßt sich eine solch einfache Beziehung auf Trichothecene, im besonderen DON, nicht übertragen (CASPER et al.; 2000).

#### **3.5.1 Leistungsmindernder Effekt**

Bezogen auf das Leitsymptom "Leistungseinbuße" weichen die Ergebnisse aus verschiedenen, in der Literatur beschriebenen Fütterungsversuchen teilweise erheblich voneinander ab. Nach wie vor ist nicht sicher ableitbar, ab welcher Konzentration tatsächlich erste, allein durch DON bedingte Leistungseinbußen auftreten (Tabelle 3).

**Tabelle 3** Bisherige Angaben über die Wirkung von DON beim Tier

<b>Tier/Gewicht</b>	<b>Konz. [mg/kg Futter]</b>	<b>Konz. [mg/kg KM]</b>	<b>Symptome</b>	<b>Referenz</b>
Ferkel o.A.	3,6 p.o.		Reduktion der FA um 20 %	FORSYTH et al.; 1977
Schw. o.A.		0,2 p.o.	Erbrechen	FORSYTH et al.; 1977
Schw. versch. KM	0-1 p.o.		Reduktion der FA	FRIEND et al.; 1982
Schw. o.A.	>300 p.o.		Schwächeanfälle, Zittern, Erbrechen, blutiger Kot, Gewichtsabnahme	TRENHOLM et al.; 1983
Schw. o.A.	2,5-4,0 p.o.		Fortpflanzungsstörungen (Zyklusstörungen, Aborte, geringe Wurfgröße), Futterverweigerung, verminderte Zunahmen, Durchfall	COTE et al.; 1984
Schw. 30,2 kg		0,5 i.v.	Speicheln, Erbrechen, Durchfall, Apathie, leichter Tremor	COPPOCK et al.; 1985
Rd. o.A.	6,4 p.o.		Reduktion der FA	TRENHOLM et al.; 1985
Schw. 23 kg	3,7 p.o.		Reduktion der FA um 23 %, verminderte Zunahmen	FRIEND et al.; 1986
Schw. 90 kg tragend	6,2 p.o.		keine	FRIEND et al.; 1986
Rd. o.A.	66 p.o. über 5 Tage		keine	COTE et al.; 1986
Schf. 70-80 kg		4,0 i.v.	keine	PRELUSKY et al.; 1986b
Schf. 70-80 kg	1,32 g/Tag/Tier p.o. über 3 Tage		Reduktion der FA	PRELUSKY et al.; 1986b
Schw. 27 kg	2,1-5,2 p.o.		tw. Reduktion der FA u. vermind. Zunahmen	FOSTER et al. 1986
Legehennen			Übertragung auf Eier nach oraler Verabreichung	PRELUSKY et al.; 1987
Schw. 27 kg	0-14 (+ ZEA)		initiales Erbrechen, Abdominalschmerz, Zähneknirschen, Futterverweigerung	WILLIAMS et al.; 1988
Schw.			Erbrechen, Futterverweigerung	DIEKMAN et GREEN; 1992 (Review)
Schw. 25 kg	2 u. 4 p.o.		Reduktion der FA, verminderte Zunahmen und Futteraufwand	BERGSJØ et al.; 1992
Schw.			Reduktion der FA, verminderte Zunahmen, Läsionen der Magenschleimhaut	FRIEND et al.; 1992
Schw.			Reduktion der FA, verminderte Zunahmen und Futtereffizienz, verminderte Schlachtkörper-gewichte, Erniedrigte Gesamt-Eiweiß-, Albumin-, Ca- und P-Gehalte im Blut	BERGSJØ et al.; 1993
Schw. 12 kg	3,0 p.o.		Reduktion der FA, verminderte Zunahmen; Erholung bei Tieren, die reines DON erhielten	PRELUSKY et al.; 1994b
Schw. 33-35 kg	versch. Konz. p.o.		sofortige Reduktion der FA und der Zunahmen, partielle dosisabhängige Erholung	TRENHOLM et al.; 1994
Schw. 10,8 kg	0-3		Absinken der Hauttemperatur, Reduktion der FA, Verkleinerung d. Schilddrüse, Veränderung der Magenschleimhaut, Anstieg von Serum-T4, -Albumin, Albumin-Globulinverhältnis, erniedrigter Globulingehalt	ROTTER et al.; 1994
Schw. 12 kg	4		Reduktion von FA u. Zunahmen, Magenschleimhaut stärker gefältelt, vorübergehende Abnahme d. Serum-Proteins und der $\gamma$ -Globuline	ROTTER et al.; 1995
Schw.			Läsionen im Nierengewebe	HARVEY et al.; 1996
Schw.			Dosisabhängige Reduktion d. Sekundären Antikörper-Bildung auf Tetanus-Toxoid	ØVERNES et al.; 1997
Masthühner			erhöhte relative Organgewichte von Muskeln, Bursa fabricii und Herz	KUBENA et al.; 1997a

Abkürzungen: Ca = Calcium, FA = Futteraufnahme, i.v. = intravenös, o.A. = ohne Angabe, P = Phosphor, p.o. = per os, Rd. = Rind, Schf. = Schaf, Schw. = Schwein, ZEA = Zearalenon

Es lassen sich durchaus Belege für eine eingeschränkte Futterraufnahme bereits ab Gehalten von 1-2 mg DON pro kg Futter finden (SCHUH et al.; 1982, FRIEND et al.; 1982, TRENHOLM et al.; 1983, YOUNG et al.; 1983, POLLMANN et al.; 1985, WILLIAMS et al.; 1988). Genauso findet man aber Hinweise darauf, dass selbst Gehalte von 2,5-3 mg DON/kg Futter keinen Einfluß auf Futterraufnahme oder Gewichtsentwicklung haben (FRIEND et al.; 1983, CHAVEZ; 1984, CHAVEZ et RHEAUME; 1986, RICHTER; 1989, BERGSJØ et al.; 1993).

Auch ähnlich aufgebaute Versuche, wie der hier dargestellte, lassen keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen Toxin-Konzentration und Wirkung im Tier erkennen. Im Vordergrund der Untersuchung stand hierbei die subakut bzw. chronische Wirkung einer DON-Exposition, weniger die genaue Ermittlung der akut toxischen Konzentration beim Schwein.

Von Interesse war vor allem auch die Frage nach möglichen Wegen zur Früherkennung einer Toxinbelastung (PRELUSKY et al.; 1994b, ROTTER et al.; 1994). Während eine reduzierte Futterraufnahme und damit verbundene Leistungseinbußen sichtbare und einfach meßbare Toxineffekte sind, läßt sich eine Änderung der Blutchemie (z. B. Eiweiß, Immunglobuline) erst durch weitergehende Untersuchungen, welche ihrerseits mit aufwändigen Manipulationen am Tier verbunden (Blutentnahmen) sind, feststellen.

Da jedoch bislang so einfache Parameter, wie Futterraufnahme und Zuwachs, keine zuverlässigen Anhaltspunkte für eine Toxinbelastung liefern, wurde in diesen Arbeiten, neben der Leistung, auch der Einfluß niedriger DON-Gehalte auf hämatologische und immunologische Parameter des Schweines untersucht. Man hoffte auf neue Möglichkeiten zur Früherkennung; eine Toxinbelastung durch Veränderungen im Blut der Tiere bereits vor dem Eintreten von Leistungseinbußen erfassen zu können.

Es wurden Gehalte bis zu 3 mg DON/kg Futter DON (ROTTER et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b) getestet bzw. in einer Art Reihenuntersuchung bis zu 10 und 19 mg DON/kg Futter (TRENHOLM et al.; 1994). Hierbei wurden vergleichend sowohl reines DON aus labortechnischer Produktion als auch natürlich kontaminiertes Getreide in entsprechender Menge eingesetzt.

Allen Versuchen gemeinsam war, dass Effekte nur in der ersten Versuchswoche auftraten, teils sogar nur in den ersten Versuchstagen (ROTTER et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b). Die sich anschließende Erholung der Tiere zeigte sich in unterschiedlichem Ausmaß. Bei ROTTER et al. (1994) kam es durch eine deutlich bessere Futtermittelverwertung belasteter Tiere zur völligen Kompensation der anfangs eingetretenen Verluste. Interessanterweise zeigte sich, dass die Futtermittelverwertung hochbelasteter Tiere nicht nur sehr viel besser war, als die der ad libitum-Kontrollen, sondern auch besser als die der pair-fed-Kontrollen.

Dagegen konnten die Einbußen bei PRELUSKY et al. (1994b) und TRENHOLM et al. (1994) im weiteren Versuchsverlauf zwar verringert werden, dennoch blieben die belasteten Tiere über den gesamten Versuchszeitraum bis zu 25 % (PRELUSKY et al.; 1994b) hinter den Kontrolltieren zurück. Die Menge des freiwillig aufgenommenen Futters verringerte sich je mg reines DON um 4,5 bis 4,7 % (TRENHOLM et al.; 1994).

Unter diesem Aspekt wird deutlich, dass das entsprechende Fütterungssystem (restriktiv vs. ad libitum) entscheidenden Einfluß auf die Entwicklung der Tiere und die Vergleichbarkeit der Ergebnisse (pair-fed) nimmt.

In den Blutuntersuchungen dieser Studien waren einerseits deutlich veränderte Gehalte an T4 (quadratischer Anstieg) zu verzeichnen (ROTTER et al.; 1994), andererseits traten Veränderungen hämatologischer Parameter nur transient in Erscheinung (ROTTER et al.; 1995). Eine erhöhte Kortikosteroidausschüttung wurde nachgewiesen, allerdings blieb weiterhin ungeklärt, ob hierbei ein direkter Toxineinfluß zum Tragen kam oder ob es sich nicht vielmehr um eine metabolische Anpassungsreaktion an ein geringeres Nährstoffangebot durch verminderte Futteraufnahme handelte (ROTTER et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b, TRENHOLM et al.; 1994).

Auch bezüglich aufgetretener Veränderungen im Bluteiweiß ließ sich kein einheitlicher Schluß ziehen. Während ROTTER et al. (1994) bereits nach 28 tägiger Versuchsdauer einen quadratischen Anstieg des Albumin-Spiegels und einen gleichzeitigen linearen Abfall des  $\alpha$ -Globulin-Gehaltes verzeichneten, fanden PRELUSKY et al. (1994b) erst nach 5 Wochen und zwar in allen Gruppen unabhängig von der Behandlung einen Anstieg von Albumin um 28-34 % sowie des Gesamt-Proteins um 16-25 % gegenüber den Ausgangsgehalten. Der diätabhängige  $\alpha$ -Globulin-Abfall trat hier indessen bereits nach 18 Tagen ein. In den Kurzzeitversuchen bei TRENHOLM et al. (1994) waren die Serumproteinwerte erniedrigt.

Die Arbeiten von ROTTER et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b und TRENHOLM et al.; 1994 unterscheiden sich in vielen Einzelheiten. So werden einmal Absetzferkel unterschiedlichen Geschlechtes (ROTTER et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b) und im anderen Fall Läuferschweine (TRENHOLM et al.; 1994) eingesetzt.

Als Kontrollfutter wird entweder ein Getreidemix mit Soja (ROTTER et al.; 1994, TRENHOLM et al.; 1994) oder ein allein auf Mais basierendes Futter ohne Soja (PRELUSKY et al.; 1994b) verwendet.

Die Tierzahl je Gruppe ist unterschiedlich und lediglich ROTTER et al.; 1994 führte eine pair-fed-Gruppe mit.

Diese Studien lieferten somit zwar wertvolle Anhaltspunkte, jedoch ließ sich immer noch kein einheitliches Muster für eine DON-Wirkung beim wachsenden Schwein entwickeln.

3.5.2 Wirkungsunterschiede von natürlich gebildetem und im Labor synthetisiertem DON  
Effekte, wie sie beim Einsatz natürlich kontaminierten Materials auftreten, sind nicht ohne weiteres auf die Wirkung des reinen Toxins übertragbar (PRELUSKY et al.; 1994b).

Einige Arbeiten zeigen, daß DON aus natürlich kontaminiertem Getreide oder Mais eine höhere Toxizität besitzt, verglichen mit dem als Reinsubstanz dem Futter zugesetzten Toxin. So läßt sich durchweg feststellen, dass bei Verabreichung von DON in Form einer natürlich kontaminierten Futtermischung klare Einbußen in Futteraufnahme und Zuwachs auftraten, während dies bei Verabreichung einer Futtermischung mit reinem Toxinzusatz in gleicher Konzentration deutlich geringer ausfiel oder zum Teil auch gar keine Einbußen verzeichnet werden konnten (FORSYTH et al.; 1977, FOSTER et al.; 1986).

Auch in jüngeren Studien wurden diese Toxizitätsunterschiede abhängig von der DON-Quelle beobachtet, was den Einfluß weiterer Faktoren nahelegt (PRELUSKY et al.; 1994, TRENHOLM et al.; 1994).

Hinzu kommt, dass selbst beim ausschließlichen Einsatz des reinen Toxins die Resultate verschiedener Studien voneinander abweichen. Während einerseits bereits ab 3,4 mg reinem DON pro kg Futter signifikante Leistungseinbußen innerhalb der ersten drei Expositionstage sowie eine negative Korrelation zwischen dem DON-Gehalt in der Diät und der täglich aufgenommenen Futtermenge beobachtet werden konnte (TRENHOLM et al.; 1994), ließen sich andererseits, unter Zusatz von 4 mg reinem DON/kg Futter, keine Leistungseinbußen hervorrufen (ROTTER et al.; 1995).

Auch wenn sich teilweise ein linearer Zusammenhang zwischen dem DON-Gehalt im Futter und einer Reduktion der Futteraufnahme bzw. Gewichtsentwicklung ermitteln ließ (FRIEND et al.; 1982, WILLIAMS et al.; 1988, ROTTER et al.; 1994, TRENHOLM et al.; 1994), so scheinen Auftreten und Ausmaß der Effekte nicht allein von der Toxinkonzentration im Futter abhängig zu sein! Bereits 1986 gaben FOSTER und Mitarbeiter zu bedenken, daß weitere, möglicherweise noch nicht identifizierte, toxische Faktoren in Betracht gezogen werden müßten. Bei Versuchen mit 18 verschiedenen Diäten (jeweils ca. 5 mg DON/kg Futter) konnten sie keine Korrelation zwischen dem DON-Gehalt im Futter und der auftretenden Reduktion von Futteraufnahme und Gewichtsentwicklung feststellen. Der Toxinzusatz erfolgte hierbei in erster Linie auf der Grundlage von natürlich kontaminierten Mais, daneben wurde aber auch natürlich kontaminierter Weizen in zwei Varianten sowie reines Toxin in einer Diätvariante verwendet.

Die Ursache für die unterschiedliche Wirksamkeit von DON bei gleichen Konzentrationen einerseits, sowie die zugrunde liegende Bedeutung der Toxinquelle für das Wirkungspotential wurden bislang nicht untersucht. Möglicherweise muß der Versuchsdurchführung ein erheblicher Einfluß zugeschrieben werden, da Parameter wie Geschlecht und Alter der Tiere, Versuchsdauer, beobachteter Mastabschnitt und die Art der Futterverabreichung in den einzelnen Studien zum Teil erheblich voneinander abweichen (DÄNICKE et al.; 2000). Die unspezifische Natur der Symptome erschwert es zusätzlich, Leistungsminderungen einer DON-Mykotoxikose zuzuordnen.

Die Ursache für eine verminderte Futteraufnahme oder Zuwachseinbußen können genauso in Umweltfaktoren wie inadäquatem Stallmanagement oder einer Vielzahl pathologischer Geschehen liegen. Werden Proben unsachgemäß entnommen oder analysiert oder sind im Material weitere, noch unbekannte Mykotoxine vorhanden, kommt es vor, dass nur „vernachlässigbar geringe“ Toxingehalte bestimmt werden (SMITH et al.; 2000).

### **3.6 Ziele der vorliegenden Untersuchung**

#### **3.6.1 Leistungsmindernder Effekt**

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, anhand definierter Versuchsbedingungen eine klare Dosis-Wirkungsbeziehung aufzudecken bzw. die Konzentration an reinem DON zu ermitteln, ab der erste, allein durch DON bedingte Leistungseinbußen meßbar werden.

Zu diesem Zweck sollte DON in Reinform in einer halbsynthetischen, getreidefreien Diät an wachsende Schweine verfüttert werden. Um die Ergebnisse mit Daten aus der Literatur vergleichen zu können, sollte begleitend eine natürlich kontaminierte Getreideration mit entsprechenden Toxingehalten verabreicht werden.

Da bereits das Futterregime gewichtigen Einfluß auf Futteraufnahmen und Zuwachsraten hat, sollte sich die Futtermenge möglichst nah an einer ad libitum-Fütterung orientieren. Um eine exakte Dosierung des reinen DON gewährleisten zu können, mußte die Futtermenge jedoch berechenbar sein.

#### **3.6.2 Zusammenhang mit immunologischen Veränderungen – Früherkennung**

Zur Kontrolle des allgemeinen Gesundheitsstatus sind Untersuchungen von Parametern im Serum sowie des Weißen und Roten Blutbildes unabdingbar. Darüberhinaus sollten Möglichkeiten zu Früherkennung einer subakuten bis chronischen Intoxikation ermittelt bzw. mehr Einzelheiten über die komplexe Wirkungsweise von DON in Erfahrung gebracht werden.

Insbesondere in subklinischen Konzentrationsbereichen wurde bisher nur selten von hämatologischen Veränderungen im Zusammenhang mit DON berichtet. Als interessanter Aspekt sollte hierbei die Fragestellung bearbeitet werden, inwieweit durch die evt. auftretenden Veränderungen (insbes. bestimmter Serumproteine, IgA) möglicherweise ein immunotoxischer Effekt bereits vor dem Auftreten meßbarer Fütterungsprobleme erkennbar werden könnte.

Abgesehen von der Bedeutung für die menschliche Gesundheit hinsichtlich der Aufklärung einer mögl. Mykotoxin-Beteiligung bei der Entstehung bestimmter Nierenerkrankungen, bieten Untersuchungen der Serum-IgA-Gehalte beim Tier (insbes. Schwein) vielleicht die Möglichkeit zur Entwicklung eines Früherkennungssystems für Trichothecen-Belastungen am lebenden Tier. Mit Hilfe einer solchen Methode könnte in unklaren Fällen eine eventuelle Beteiligung von Mykotoxinen an einem Krankheitsgeschehen abgesichert werden.

### 3.6.3 Umwandlung von Deoxynivalenol in einen ungiftigen Metaboliten (Deepoxidierung)

Die in der Literatur beschriebene Deepoxidierung von DON durch die Darmflora zum deutlich weniger toxischen Deoxynivalenol-Metabolit-1 (DOM-1) stellt für sich eine Entgiftung dar. Eine für diese Reaktion vermutlich notwendige "Adaptation" der Mikroflora könnte die unterschiedliche Wirksamkeit von DON aus verschiedenen Quellen erklären.

Aus diesem Grund sollte im Rahmen der vorliegenden Untersuchung geprüft werden, ob eine solche „Adaptation“ der Darmmikroflora unter Toxinbelastung stattfindet, von welchen Faktoren diese abhängt (u. a. Toxingehalt und Darreichungsform) und ob sie einen Einfluß auf die DON-Wirkung hat.

### 3.6.4 Histologie/Enzymatik des Darmes

Der Gastrointestinaltrakt stellt das Zielorgan für die toxische Wirkung von DON dar. Zur näheren Abklärung der Wirkungsweise sollte sowohl die Wirkung von DON auf die Integrität des GIT, als auch die Beeinflussung enzymatischer Vorgänge im Hinblick auf leistungsmindernde Faktoren untersucht werden. Hierzu sollten nach Versuchsende Schlachtungen mit anschließenden Untersuchungen und Beprobung durchgeführt werden.

## 4 MATERIAL UND METHODEN

### 4.1 Gewinnung von reinem Deoxynivalenol

Die Darstellung von reinem Deoxynivalenol erfolgte, basierend auf den Arbeiten von ALTPETER et POSSELT (1994), durch 11 tägige Kultivierung von *Fusarium graminearum* auf Reis. Diese Methode wurde nach LAUBER et al. (1997) dahingehend variiert, dass die Inkubationszeit von ursprünglich 14-15 Tagen (Teilprojekt A, Dissertation GÖTZ; 2003) auf 9 bis max. 10 Tage verkürzt wurde. Bereits ALTPETER et POSSELT (1994) erfassten einen Peak in der Syntheserate nach 9 Tagen Bebrütungszeit.

In Vorversuchen mit jeweils bis zu 10 Babynahrungsgläsern (= 200 g Reis) wurde das Toxinbildungsvermögen der eingesetzten Isolate überprüft. Das hierbei gebildete Toxin 3-ADON wurde anschließend mittels eines Methanol (10%)-Wasser-Gemisches extrahiert und die Auftrennung erfolgte durch Flüssig-flüssig-Extraktion mit Ethylacetat. Hierdurch konnten 75% reines 3 ADON gewonnen werden.

Die Extraktion kann auch über eine feste Phase (Extrelut) erfolgen, wobei der Toxingewinn um einiges höher anzusetzen ist, allerdings steigen damit die Materialkosten für die Toxingewinnung deutlich.

Das gewonnene 3-ADON wurde weiterhin über eine Ionentausch-Chromatographie zu DON hydrolysiert. Die für die Hydrolyse des 3-ADON eingesetzte Ionenaustauscher-Säule konnte nach entsprechender Regenerierung für sämtliche Ansätze verwendet werden.

### 4.2 Tierexperimentelle Untersuchungen

Der Tierversuch wurde vom Regierungspräsidium Stuttgart hinsichtlich der Notwendigkeit der Versuche unter Berücksichtigung des derzeit aktuellen Wissensstandes, möglicher Alternativen (Zellkulturen, Organisolaten, Versuche an niederen Organismen), ethischer Abwägungen und einer Vereinbarkeit mit dem Tierschutzgesetz geprüft und genehmigt (Aktenzeichen Nr. V 147/99 TE "Wirkungen von Deoxynivalenol beim Schwein").

#### 4.2.1 Versuchsaufbau

Die Untersuchungen wurden am Institut für Tierernährung der Universität Hohenheim mit Läufer Schweinen der Kreuzung Deutsche Landrasse x Piétrain durchgeführt. Die für jeden Durchgang benötigten Tiere stammten vom Versuchsgut „Unterer Lindenhof“ der Universität Hohenheim und wurden jeweils aus einer möglichst geringen Anzahl unterschiedlicher Würfe zusammengestellt (Tabelle 4 ).



**Tabelle 4** Aufbau des Versuches, Darstellung der einzelnen, zeitlich versetzt durchgeführten Durchgänge (A, B, C, D)[nat] = natürlich kontaminierter Weizen, [syn]= mit synthetisch hergestelltem reinen DON kontaminierte Ration, Daten in Klammer = Einstellung, Beginn der Adaptationsphase

<b>Durchgang</b>	<b>Behandlung</b>	<b>Tierzahl (n)</b>	<b>KM (kg) Tag 0-Tag 28</b>	<b>Fütterung</b>
<b>A</b>  (19.4.) 11.5.-10.6.  <b>28 Tage</b>	Kontrolle [nat]	5		restriktive Fütterung einer unbelasteten Getreidemischung (Weizen)
	Toxin 4000 µg [nat]	5		restriktive Fütterung einer natürlich belasteten Getreidemischung (Weizen mit 4000 µg DON/kg)
	Kontrolle [syn]	5		restriktive Fütterung einer unbelasteten getreidefreien Futtermischung auf Kartoffelbasis
	Toxin 4000 µg [syn]	5		restriktive Fütterung einer künstlich mit reinem DON belasteten getreidefreien Futtermischung auf Kartoffelbasis ( 4000 µg DON/kg)
<b>B</b>  (24.6) 13.7.-10.8.  <b>28 Tage</b>	Kontrolle [nat]	5		ad libitum-Fütterung einer unbelasteten Getreidemischung (Weizen)
	Toxin 4000 µg [nat]	5		ad libitum-Fütterung einer natürlich belasteten Getreidemischung (Weizen mit 4000 µg DON/kg)
	Toxin 6000 µg [nat]	5		ad libitum-Fütterung einer belasteten Getreidemischung (Weizen mit 6000 µg DON/kg)
<b>C</b>  (28.10) 16.11.- 14.12.  <b>28 Tage</b>	Kontrolle [syn]	5		ad libitum-Fütterung einer unbelasteten getreidefreien Futtermischung (Kartoffel)
	Toxin 4000 µg [syn]	5		ad libitum-Fütterung einer künstlich mit reinem DON belasteten getreidefreien Futtermischung auf Kartoffelbasis (4000 µg DON/kg)
	Toxin 6000 µg [syn]	5		ad libitum-Fütterung einer künstlich mit reinem DON belasteten getreidefreien Futtermischung auf Kartoffelbasis (6000 µg DON/kg)
<b>D<sup>1</sup></b>  29.3.-11.5.	Kontrolle [nat]	2		restriktive Fütterung einer unbelasteten Getreidemischung (Weizen)
	Toxin [syn] in Weizen	2		restriktive Fütterung einer unbelasteten Getreidemischung (Weizen) + künstliche Kontamination mit reinem DON (4000 µg DON/kg)
	Toxin [nat]	2		restriktive Fütterung einer belasteten Getreidemischung (Weizen mit 4000 µg DON/kg)

<sup>1</sup> Kontroll- und Ersatztiere aus Durchgang C; zuvor Fütterung mit unbelasteter getreidefreier Futtermischung auf Kartoffelbasis über 188 Tage, KM 100 kg

Geplant war, durch Versuche mit begrenzter Tierzahl den relevanten Konzentrationsbereich und das für diese Versuchskonstellation am besten geeignete Fütterungsregime zu ermitteln, um dann in einem groß angelegten Versuch statistisch auswertbare Daten erheben zu können.

Im ersten Versuch (*Durchgang A*) wurde mit 4000 µg DON/kg Futter, eine Toxinkonzentration gewählt, bei der laut Literatur (ROTTER et al.; 1994, ROTTER et al.; 1995, TRENHOLM et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b, BERGSJØ et al.; 1992) bereits Leistungseinbußen meßbar werden. Diese Konzentration sollte zum einen in natürlicher Form, also durch Fusariumbesatz bedingte Kontamination in Weizen, verabreicht werden. Zum anderen sollte es auch künstlich (synthetisch), als reines (labortechnisch isoliertes) DON zu einer getreidefreien Ration zugesetzt werden. Das Futterregime war restriktiv, wobei die zugeteilte Futtermenge rechnerisch einer ad libitum-Fütterung nahe kommen sollte.

Um Aussagen über einen Wirkungstrend treffen zu können wurde die Tierzahl pro Gruppe so gering als möglich gewählt (n=5). Dies geschah auch in Hinblick darauf, trotz begrenzter Stallgröße, alle Gruppen parallel dem Fütterungsversuch unterziehen zu können.

In einem zweiten Versuch (*Durchgang B*) wurde das Hauptaugenmerk auf die relevante Toxinkonzentration gelenkt und zunächst ausschließlich eine natürlich kontaminierte Weizenmischung mit zwei Toxinstufen (4000 und 6000 µg DON/kg Futter) ad libitum verabreicht.

Dieser Versuch wurde dann mit neuen Tieren, der getreidefreien Futtervariante und gleichen Konzentrationen reinen (synthetischen) Deoxynivalenols in ad libitum-Fütterung wiederholt (*Durchgang C*).

Die Kontroll- und Reservetiere des letzten Versuchs (*Durchgang C*) wurden für weitere Untersuchungen zur DON-Metabolisierung durch die Darmflora im Stall behalten. Diese Tiere erhielten im Anschluß an die getreidefreie Futtervariante zunächst eine unbelastete Getreidemischung.

Im abschließenden Versuch (*Durchgang D*, n=2) wurde vergleichend eine unbelastete Getreidemischung, eine natürlich kontaminierte Getreidemischung (4000 µg DON/kg Futter) und eine unbelastete Getreidemischung mit künstlichem Toxinzusatz (4000 µg DONsynth/kg Futter) restriktiv verfüttert und der Kot dieser Tiere auf DON-Metaboliten (DOM-1) untersucht. Da es sich hierbei um Spendertiere für *in vitro*-Untersuchungen handelte war eine so geringe Tierzahl ausreichend.

#### 4.2.2 Tiere und Haltung

Insgesamt standen 60 männliche Ferkel mit einem mittleren Körpergewicht von  $12,1 \pm 1,73$  kg (*Durchgang A*),  $13,0 \pm 1,71$  kg (*Durchgang B*) bzw.  $12,9 \pm 1,64$  kg (*Durchgang C*) zur Verfügung.

Die Tiere blieben jeweils die ersten vier bis sechs Lebenswochen im Erzeugerstall; das Absetzen erfolgte in der 4. bis 5. Lebenswoche. Durch Bereitstellung der getreidefreien Futtermischung (4.2.3) als Beifutter konnte ein vorzeitiger Kontakt der Tiere mit Fusarientoxinen annähernd ausgeschlossen werden.

Im ersten Abschnitt (*Durchgang A*) erfolgte das Absetzen zeitgleich mit der Umstallung in das Institut für Tierernährung, in den beiden nachfolgenden *Durchgängen (B, C)* verblieben die Tiere im Anschluß an das Absetzen für eine weitere Woche im Erzeugerbetrieb. Absetzen und Stallwechsel erfolgten somit zeitlich getrennt. Die Tiere wurden während der Adaptationsphase zunächst paarweise in Buchten gehalten und anschließend einzeln aufgestellt.

Während des Versuches standen die Tiere in Einzelbuchten (2,2 m<sup>2</sup>) ohne Einstreu mit Sichtkontakt. Die Buchten waren seitlich mit durchsichtigen Plexiglaswänden begrenzt, um die Verschleppung von Toxin oder getreidehaltigen Futters zu vermeiden, aber wenigstens Sichtkontakt zu gewähren. Trinkwasser stand über Nippeltränken ad libitum zur Verfügung. Die Buchten wurden einmal täglich durch Ausspritzen mit Wasser gereinigt.

**Tabelle 5**      **Gliederung der Versuchsabschnitte hinsichtlich Alter der Tiere und Zeitpunkt der Probenahmen**

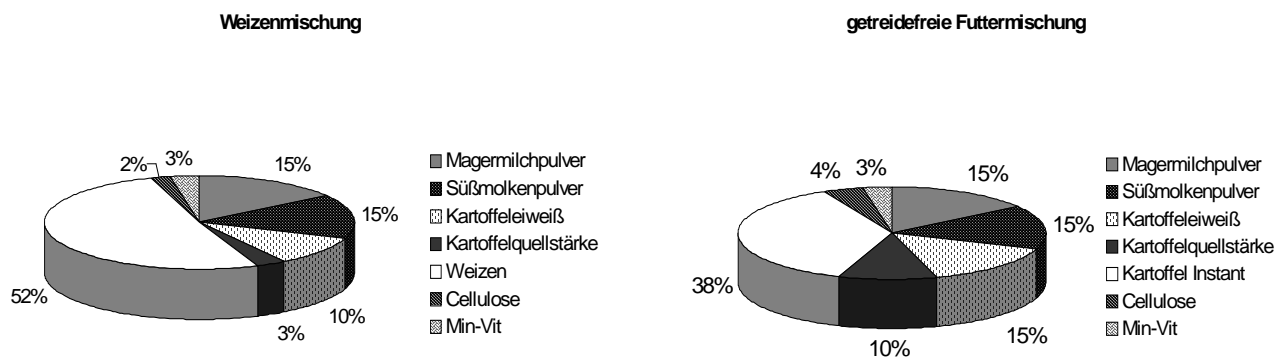
<b>Durchgang</b>	<b>Alter in Lebenswochen zum Zeitpunkt des Absetzens der Einstallung</b>		<b>Adaptationsphase im Versuchstall</b>	<b>Alter in Lebenswochen bei Vers.-Beginn (Tag 0)</b>	<b>Behandlungen während des Versuchs (Tag 0-28/31)</b>	
					<b>Versuchstag</b>	<b>Probe</b>
<b>A</b>	4.-5.	4.-5.	21 Tage	7.-8.	0, 7, 14, 21, 31	Erfassung d. Körpergewichts
					1	1. Toxingabe
					1, 8, 15, 22	Kotprobenentnahme
					0, 14, 31*	Blutprobenentnahme
<b>B</b>	4.-5.	5.-6.	14 Tage	7.-8.	0, 7, 14, 21, 27	Erfassung d. Körpergewichts
					1	1. Toxingabe
					1, 8, 15, 22	Kotprobenentnahme
					0, 14, 27	Blutprobenentnahme
<b>C</b>	4.-5.	5.-6.	14 Tage	7.-8.	0, 7, 14, 21, 28	Erfassung des Körpergewichts
					1	1. Toxingabe
					-1, 8, 15, 22, 29	Kotprobenentnahme
					0, 14, 28	Blutprobenentnahme
<b>D</b>	siehe C	siehe C	siehe C	27.-28.	1, 3, 6, 8, 10, 13, 16, 20, 28, 30, 37, 44	Kotprobenentnahme

\* Der Versuch mußte wegen der Teilnahme an einer Vortragsveranstaltung der Deutschen Gesellschaft für Mykotoxinforschung (Mykotoxinworkshop) um 3 Tage verlängert werden.

#### 4.2.3 Futter

Im Gegensatz zu vorhergehenden Untersuchungen von GÖTZ et al. (2003) innerhalb des selben Projektes, wurde hier nicht nur eine rein synthetische Futtervariante verabreicht. Es sollte vielmehr vergleichend die Toxinwirkung in einer natürlich kontaminierten Getreideration getestet werden, um Aussagen über eine tatsächlich allein dem DON zuzuschreibenden Toxinwirkung treffen zu können.

Das Grundfutter setzte sich aus mehreren Einzelkomponenten zusammen, wobei die Zusammensetzung beider Futtervarianten (getreidehaltig bzw. getreidefrei) annähernd gleich gestaltet wurde. Lediglich die Komponenten Kartoffeleiweiß, Kartoffelstärke und Zellulose wurden in ihren Anteilen derart variiert, dass von ausgeglichenen Rohnährstoffgehalten in den jeweiligen Endmischung ausgegangen werden konnte (Abbildung 2 und Tabelle 9, S. 48, Tabelle 28 Tabellenanhang).



**Abbildung 2** Zusammensetzung der getreidehaltigen bzw. getreidefreien Futtermischung.

Das verwendete Getreide mit natürlicher Kontamination wurde speziell für diesen Versuch vom Institut für Pflanzenbau der Universität Hohenheim auf einer Versuchsanlage des Ihinger Hofes produziert. Der Anbau erfolgte größerflächig auf drei Feldschlägen mit unterschiedlicher Schlagvorgeschichte unter definierten Bedingungen (Tabelle 6).

Tabelle 6 Anbaubedingungen und Behandlungen des verwendeten Getreides Sorte Pegassos.

	<b>Seeacker</b>	<b>Talacker</b>	<b>Lerchenberg</b>
<b>Vorfrucht</b>	Erbse	Silomais	Triticale
<b>Beregnungsanlage</b>	vorhanden	vorhanden	nicht vorhanden
<b>Bodenbearbeitung</b>	Stoppelbearbeitung, zweimal fräsen	einmal fräsen	pflügen, Kreiselegge
<b>Inokulation</b>	Ausbringung von 500000 Sporen/ml (Sprühinfektion bei Blüte) des <i>Fusarium culmorum</i> -Stammes FC 46 <sup>2</sup>	Ausbringung von 50000 Sporen/ml (Sprühinfektion bei Blüte) des <i>Fusarium culmorum</i> -Stammes FC 46 <sup>2</sup>	
<b>Ziel</b>	Starker Befall, hohe Toxingehalte (>8000 mg/kg) (Befallswahrscheinlichkeit bei trockener Witterung durch Wasserapplikation unterstützen)	Geringer bis mittlerer Befall, geringe bis mittlere Toxingehalte (<8000 mg/kg); (Befallswahrscheinlichkeit bei trockener Witterung durch Wasserapplikation unterstützen)	Keine Infektion. Durch Fungizidapplikation(en) soll der Bestand möglichst befallsfrei gehalten werden.
<b>Mittl. DON-Gehalte</b>	8746 ± 1586 mg/kg	11958 ± 1000 mg/kg	78 ± 36 mg/kg

Zur Vermeidung einer Kontamination nicht befallener Korngüter im Mähdrescher erfolgte der Drusch in der Abfolge Lerchenberg < Talacker < Seeacker. Nach Feststellung der Toxingehalte wurde das Korngut in einer vorher gründlich gereinigten Beiztrommel gemischt. Entsprechend der gewünschten Toxingehalte in der Endmischung wurde unbelasteter Weizen in den jeweiligen Rationen durch natürlich kontaminierten ersetzt.

Die erforderlichen Mischungsverhältnisse (belasteter/unbelasteter Weizen) wurden anhand der mittleren Toxingehalte der Weizenchargen berechnet und die tatsächlichen Gehalte in den Endmischungen mittels GC/MS überprüft.

In der getreidefreien Mischung wurde der Weizenanteil komplett durch Kartoffel (Instant-Pulver + Kartoffelstärke) substituiert. Sowohl die Kartoffel- als auch die Getreidemischung wurden als Futtermehle vorgelegt. Eine Pelletierung war durch die Verwendung von Kartoffel-Instantpulver nicht möglich.

#### 4.2.4 Fütterung

Die Fütterung erfolgte zweimal täglich in flüssiger Form. Hierzu wurde die jeweilige Futtermischung in den Futtertrog gegeben und mit Wasser zu einem dickflüssigen Futterbrei verrührt. Im *Durchgang A* wurde die Wassermenge frei hinzugegeben. In den nachfolgenden Durchgängen wurde das Futter mit Wasser im Verhältnis 1:1,5 angerührt.

<sup>2</sup> Institut für Pflanzenzüchtung, Universität Hohenheim

Während der Adaptationsphase im Stall erhielten alle Tiere, je nach Gruppenzuteilung (getreidefrei bzw. getreidehaltig), die jeweilige Futtervariante ohne Toxinbelastung.

In *Durchgang A* wurden parallel die kontaminierte Getreidmischung und die getreidefreie Futtermischung mit reinem Toxin in einer Konzentration von jeweils 4000 µg DON/kg verabreicht. In diesem Abschnitt wurde restriktiv, unter Einbeziehung der metabolischen Körpermasse gefüttert (Tabelle 4 ). Die Berechnung der zugeteilten Futterrations erfolgte gemäß der Gleichung:

$$\text{Tagesration} = x^{0,75} * f$$

wobei

$$x = \frac{1}{2} \Delta * KM_{\text{aktuell}}$$

$$\Delta = KM_{\text{aktuell}} - KM_{\text{Vorwoche}}$$

$$f = \text{Futtermenge [g/kg } KM^{0,75}]$$

$$\text{Bsp.: } f_{\text{Vers.-Beginn}} = 60 \text{ bis } 75$$

$$f_{\text{Versuchsende}} = 95$$

Der Rationsermittlung wurde die metabolische Körpermasse, unter Berücksichtigung der wöchentlichen Zunahmen, zugrunde gelegt. Die Futtermenge wurde wöchentlich, der Entwicklung der Tiere Rechnung tragend, gesteigert.

Anhand dieser Vorgehensweise sollte einerseits eine gute, nahezu ungebremste, Entwicklung der Tiere ermöglicht, gleichzeitig jedoch eine zu großen Auseinanderentwicklung der Einzelgewichte vermieden werden. Außerdem mußte aufgrund des Versuchsansatzes die genaue Futtermenge bekannt bzw. bestimmbar sein, um die entsprechende Menge Reintoxins zudotieren zu können.

Die jeweilige Futterrations wurde im Trog frisch mit einer nicht definierten Menge Wasser angerührt (je nach Konsistenz). In der getreidefrei gefütterten Gruppe erfolgte die Verabreichung des reinen Toxins durch Zugabe von DON (gelöst in einer sehr geringen Menge Ethanol) bei jeder Fütterung, wobei die Kontrolltiere eine entsprechende Menge reinen Ethanols erhielten.

In den *Durchgängen B* und *C* erhielten die Tiere Futter ad libitum mit der entsprechenden Toxinmenge (natürlich oder künstlich zudotiert). Umgesetzt wurde dies aufgrund fehlender Fütterungsanlage durch Vorlegen überdimensionierter Futterrations, welche in diesen beiden Durchgängen mit einer definierten Menge Wasser angerührt wurden.

Die jeweils im Trog verbleibenden Reste, wurden nach einer definierten Fütterungszeit zurückgewogen. Wurde die zugeteilte Futtermenge im Einzelfall dennoch gänzlich aufgenommen, so erhielten die Tiere erneut portionsweise Futter nach, so lange bis Reste im Trog verblieben um eine ad libitum Fütterung zu gewährleisten.

In *Durchgang C* (getreidefreie Kartoffelmischung mit künstlichem Reintoxinzusatz) wurden bei erforderlichlichem Nachfüttern auch entsprechende Toxin- bzw. Ethanolmengen nachdosiert. Durch Anrühren des Futters mit einer definierten Menge Wasser konnte das nicht aufgenommene Futter naß zurückgewogen werden. Anhand des zuvor bestimmten Trockensubstanzgehaltes der Futtermischungen wurde dann die tatsächlich aufgenommene Futtermenge berechnet. Die Entwicklung und Leistung der Tiere (Körpermasse und Zunahmen) wurden durch wöchentliches Wiegen erfaßt.

#### 4.2.5 Probennahme

##### 4.2.5.1 Blut

Jeweils zu Beginn, Mitte und Ende jedes Versuchsabschnittes (Tabelle 5) wurde Blut aus der Vena cava cranialis entnommen. Hierzu wurden die Tiere auf dem Rücken liegend fixiert und die Vene mit einer Kanüle (0,9 x 70 mm) punktiert. Die Proben wurden sofort bis zur weiteren Aufarbeitung auf Eis gekühlt.

##### 4.2.5.2 Kot

In allen Versuchsabschnitten wurde wöchentlich frischer Kot direkt aus dem Rektum aller Tiere gewonnen und für Untersuchungen zu einer eventuellen DON-Transformation weiter aufgearbeitet.

#### 4.2.6 Euthanasie/Schlachtung

Ausgewählte Tiere aus *Durchgang A* wurden einer Versuchsschlachtung mit Probennahme für nachfolgende enzymatische Untersuchungen unterzogen. Alle übrigen belasteten Tiere aus diesem Versuchsabschnitt wurden euthanasiert, wohingegen die unbelasteten Kontrolltiere geschlachtet und vermarktet wurden.

Ausgewählte Tiere aus *Durchgang B* wurden euthanasiert und anschließend für histologische und enzymatische Untersuchungen beprobt. Die übrigen Kontrolltiere wurden geschlachtet und verwertet, alle weiteren belasteten Tiere hingegen wurden euthanasiert.

Am Ende von *Durchgang C* wurden alle belasteten Tiere euthanasiert. Die unbelasteten Kontrolltiere sowie die Ersatztiere verblieben für weitere Metabolisierungsstudien im Stall. Nach deren Abschluß wurden die Tiere dann ebenfalls euthanasiert.

Die Euthanasie der Tiere erfolgte nach vorausgehender Sedierung mit Ketamin<sup>®3</sup> (10 mg/kg KM i.m.) und Stresnil<sup>®4</sup> (10 mg/kg KM i.m.) durch intravenöse Injektion einer Überdosis Narcoren<sup>®5</sup> (> 60 mg /kg KM).

#### 4.2.7 Organproben

In *Durchgang A* und *B* wurden unmittelbar nach der Schlachtung Dünn- und Dickdarmproben ausgewählter Tiere für weiterführende enzymatische Untersuchungen entnommen. Sofort nach Eintritt des Todes wurde die Bauchhöhle mit Hilfe eines Messers eröffnet und der gesamte Magen-Darm-Trakt entnommen. Für enzymatischen Untersuchungen wurden ca. 20 cm lange Stücke von Magenfundus (Länge 10 cm), Duodenum (ca. 100 cm distal des Pylorus) und Colon (ca. 100 cm distal der Ileocaecal-Klappe) entnommen.

Die Darmabschnitte wurden longitudinal mit einer Schere eröffnet und mit eiskalter 0,9 %iger NaCl und eiskalter PBS (pH 7,4) gewaschen. Teilstücke der Magen- und Darmmukosa (ca. 2x3 cm) wurden anschließend mit einem Objektträger abgeschabt, in flüssigem Stickstoff (Dewar-Gefäß) schockgefroren und, nach Überführen in beschriftete Metallgefäße, bei -80°C gelagert.

Zusätzlich wurden im *Durchgang B* einzelne Tiere aus der unbelasteten Kontrollgruppe (beste Leistung) und der höchsten Belastungsgruppe (geringste Leistung) einer histologischen Untersuchung (gesamter Magen-Darm-Trakt) durch Prof. Amselgruber vom Institut für Umwelt und Tierhygiene, Fachgebiet Anatomie und Physiologie der Haustiere der Universität Hohenheim, zugeführt. Hierfür wurden sofort nach Eintritt des Todes neben den Proben für die enzymatische Untersuchung (s.o.) weitere Teilstücke des gesamten Magen-Darmtraktes sowie Proben von Leber, Niere, Nebennieren und Pankreas entnommen und in Formalin fixiert.

### 4.3 Weiterführende Untersuchungen

#### 4.3.1 Blut

In allen drei Durchgängen wurde jeweils zu Beginn, nach zwei und nach vier Versuchswochen Blut entnommen und die in Tabelle 7 aufgeführten zellulären Bestandteile, Enzyme, Substrate, Proteine und Hormone bestimmt.

---

<sup>3</sup> Ketamin<sup>®</sup>, Wirtschaftsgenossenschaft Deutscher Tierärzte eG, 30827 Garbsen

<sup>4</sup> Stresnil<sup>®</sup>, Janssen GmbH, 41460 Neuss

<sup>5</sup> Narcoren<sup>®</sup>, Merial GmbH, 88471 Laupheim



Die Bestimmungen der zellulären Bestandteile erfolgten aus heparinisiertem Vollblut und wurden von einem für veterinärmedizinische Zwecke ausgestatteten Labor (GeVo-Diagnostik<sup>6</sup>) durchgeführt.

Die Bestimmung der nichtzellulären Blutbestandteile wurden von Dr. med G. Hüsgen<sup>7</sup> aus dem Serum durchgeführt. Die jeweils verwendeten Methoden und Verfahren sind in Tabelle 8 aufgeführt.

#### *Geräte und Chemikalien:*

Kanülen (0,9 x 70mm, gelb), Monovetten zur Serum- und Heparinblutgewinnung (Sarstedt Serum-Monovette 9 ml, Sarstedt Li-Heparin-Monovette 9 ml mit 12-30 I.E Li-Hep./ml Blut), Glasstab, Eppendorffpipette (100-1000 µl), Eiswasserbäder, Zentrifuge (Heräus Sepatech Minifuge RF), Probenröhrchen (nach Angaben des Fremdlabors), Eppendorff-Gefäße 2,5 ml, Sulfosalicylsäure (Merck), aqua bidest

**Tabelle 7**      **Untersuchte Blutparameter im Vollblut, Serum und Plasma**

<b>zell. Bestandteile</b>	<b>Enzyme</b>	<b>Substrate</b>	<b>Proteine</b>	<b>Hormone</b>
Diff.-Blutbild <sup>1,5</sup>	alk. Phosphatase <sup>2</sup>	anorg. Phosphat <sup>2</sup>	Albumin <sup>2</sup>	Thyroxin <sup>2</sup>
Leukozyten <sup>1,5</sup>	α-Amylase <sup>2</sup>	Bilirubin ges. <sup>2</sup>	Globulin-	Trijodthyronin <sup>2</sup>
Erythrozyten <sup>1,5</sup>	GLDH <sup>2</sup>	Cholesterin ges. <sup>2</sup>	fraktionen <sup>2</sup>	
Hämatokrit <sup>1,5</sup>	GOT/AST <sup>2</sup>	LDL-Cholesterin <sup>2</sup>	Immunglobuline <sup>2,4</sup>	
	GPT/ALT <sup>2</sup>	Gesamteiweiß <sup>2</sup>		
	γ-GT <sup>2</sup>	Glucose <sup>2</sup>		
	LDH <sup>2</sup>	Hämoglobin <sup>1</sup>		
	Lipase <sup>2</sup>	Harnstoff <sup>2</sup>		
	SDH <sup>3</sup>	Kreatinin <sup>2</sup>		
		Triglyceride <sup>2</sup>		

<sup>1</sup> Bestimmung im Vollblut, <sup>2</sup> Bestimmung im Serum, <sup>3</sup> Bestimmung im Plasma, <sup>4</sup> Institut für Tierzucht und Tiervershalten Mariensee/Neustadt, Dr. Klobasa, <sup>5</sup> GeVo Diagnostik, Sielmingen

#### 4.3.2    Aufbereitung von Serum

Blutgefüllte Serumröhrchen wurden zur vollständigen Gerinnung für ca. 10 Minuten im Eiswasserbad belassen. Anschließend wurde das Blutkoagulum mit einem sauberen Glasstab gelöst und die Probe ca. 10 Minuten bei 3500 Umdrehungen (entspricht 240 g) und max. 10°C zentrifugiert.

<sup>6</sup> GeVo, Gesellschaft für medizinische und biologische Untersuchungen mbH, 70794 Filderstadt

<sup>7</sup> Dr. med. G. Hüsgen, Laborärzte Leinfelden, 70771 Leinfelden (sYnlab-Verbund)

1,8 ml des Überstandes wurden zur Bestimmung von Glucose (nüchtern im Serum), Gesamtcholesterin, Triglyceride, HDL-/LDL-Cholesterin (chem. Bestimmung), Gesamtbilirubin, alkalische Phosphatase,  $\gamma$ -GT, GOT/AST, GPT/ALT, LDH, GLDH, Harnstoff, Gesamteiweiß, Eiweiß-Elektrophorese, anorganisches Phosphat, Kreatinin (enzymatisch) sowie T3 und T4 in einem humanmedizinischen Labor (Dr. med G. Hüsgen) in vorbereitete Probengefäße pipettiert.

Überschüssiges Serum wurde zur Lagerung in Eppendorffgefäße portioniert, bei  $-20^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren und anschließend bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert.

Die Bestimmung der Immunglobulin-Gehalte erfolgte durch einfache radiale Immundiffusion nach MANCINI et al. (1965) modifiziert nach KLOBASA et al.; 1983 und KLOBASA, 1987 im Institut für Tierzucht und Tierverhalten (Mariensee) in Neustadt.

#### 4.3.3 Aufbereitung von Heparinblut

Für Untersuchungen der korpuskulären Blutbestandteile wurde 1 ml heparinisiertes Vollblut in ein vorbereitetes Probenröhrchen gegeben und an ein veterinärmedizinisches Labor (GeVO Diagnostik) übersandt. Dort erfolgte die Bestimmung des roten und weißen Blubildes mittels Impedanzmethode. Der Hämatokritwert wurde nach Zentrifugation in einer Mikrozentrifuge abgelesen und anschließend MCV und MCHC berechnet.

Für eine geplante Aminosäurebestimmung wurden jeweils 400  $\mu\text{l}$  heparinisiertes Vollblut in Eppendorff Reaktionsgefäße mit jeweils 400  $\mu\text{l}$  vorgelegter 5 %iger Sulfosalicylsäurelösung gegeben und durch Schütteln gemischt.

Das übrige Heparinblut wurde 10 Minuten bei 3000 bis max. 3500 Umdrehungen (entspricht 176 bis 240 g) und max.  $10^{\circ}\text{C}$  zentrifugiert. Jeweils 600  $\mu\text{l}$  Plasma wurden für die Bestimmung der SDH-Aktivität entnommen.

Überschüssiges Plasma wurde zur Lagerung in Eppendorff Reaktionsgefäße portioniert, bei  $-20^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren und anschließend bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert.

**Tabelle 8**      **Untersuchungsmethoden zur Messung der untersuchten Blutparameter Labor Dr. med. G. Hüsgen, Laborärzte Leinfelden (synlab-Verbund)**

<b>Parameter</b>	<b>Methode<sup>8</sup></b>
Albumin	Bromcresolgrün-Methode (MPR 1 442 201)
Alkalische Phosphatase	Optimierte Standardmethode (MPR3 1 442 236)
$\alpha$ -Amylase	Enzymatischer Farbtest (PNP) (MPR3 1 442 309)
ALT (GPT)	Optimierte Standardmethode (MPR3 1 442 511)
Anorganisches Phosphat	Molybdat/Vanadat-Reaktion (MPR2 124 974)
AST (GOT)	Optimierte Standardmethode (MPR3 1 442 490)
Bilirubin	DPD-Methode (MPR2 1 442 333)
Cholesterin	CHOD-PAP-Methode (MPR3 236 691)
HDL-Cholesterin	Phosphor-Wolfram-Fällung (543 004)
LDL-Cholesterin	Polyvinylsulfat-Fällung (726 290)
Gesamtprotein	Biuret-Methode (MPR3 124 281)
GLDH	Optimierte Standardmethode (MPR3 1 442 442)
Glucose	Hexokinase/G6P-DH (MPR 1 442 457)
$\gamma$ -GT	Kinetischer Test (MPR3 1 442 562)
Harnstoff	UV-Methode (MPR2 1 360 604)
Kreatinin	Enzymatischer Farbtest (883 263)
LDH	Optimierte Standardmethode (MPR3 1 442 619)
Lipase	Turbidimetrisch (1 268 449)
Triglyceride	Enzymatischer Farbtest (MPR 701 912)
T3/T4	ELISA

#### 4.3.4 Kot

Für Untersuchungen zur DON-Transformation wurde der Kot direkt nach der Entnahme bis zur weiteren Aufarbeitung in CO<sub>2</sub>-gefüllte Gläschen überführt. Für direkte DON-Bestimmungen (stichprobenartig) wurde der Kot sofort bei -20°C eingefroren und bis zur Analyse gelagert.

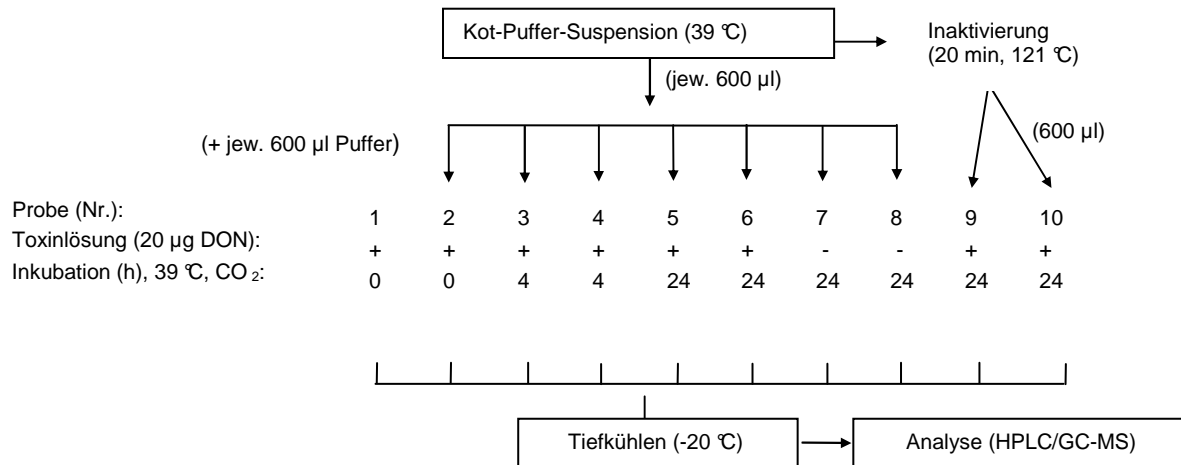
##### 4.3.4.1 DON-Transformation

###### *Kot-Inkubation mit reinem Deoxynivalenol (Prinzip)*

Jeweils 1 g Kot wurden in einem, speziell auf die Verhältnisse im Schweinedarm adaptierten, reduzierenden Puffersystem (BUSKE, 2000) suspendiert und bei 39°C temperiert. Aliquote von jeweils 600 µl dieser Kot-Puffer-Suspension wurden, wie in Abbildung 3 dargestellt, behandelt.

Die Befüllung der Vials erfolgte in einer Wanne unter CO<sub>2</sub>-Atmosphäre, die Inkubation, luftdicht verschlossen, in einem Brutschrank bei 37°C. Nach entsprechender Inkubationszeit wurde die Metabolisierung durch schnelle Kühlung auf -20°C gestoppt und die Ansätze bis zur weiteren Aufarbeitung bei dieser Temperatur gelagert.

<sup>8</sup> verwendet wurden Testkits der Fa. Boehringer Mannheim



**Abbildung 3** In-vitro-Testsystem zur DON-Transformation durch Mikroorganismen Proben-Nr.: 1: dotierte Toxinmenge, 2: Positiv-Kontrolle (nicht inkubiert, zur Best. der Wiederfindung), 3/4: Doppelansatz 4 h Inkubat., 5/6: Doppelansatz 24 h Inkubat., 7/8: Negativ-Kontrolle (ohne Toxinzusatz), 9/10: Positiv-Kontrolle (inaktiviert)

### Geräte

Erlenmeyer-Kolben oder Sovirelflasche (1000 ml), Magnet, Magnetrührer (IKA Combimag PCO), Wasserbad mit Thermostat (Haake K 20, DC1), pH-Meter (Mikroprozessor pH-Meter CG 840, Schott), Meßpipetten (5 ml, 1 ml), Pipettierhilfe, Waage (Sartorius BP 221S), Kunststoffspatel, Wiegeschiffchen, Kohlendioxid-Flasche (Sauerstoffwerk Friedrichshafen GmbH, CO<sub>2</sub> 3,5 (99,95 Vol%)), PE-Schlauch, 10 ml-Rollrandgläser mit Kunststoffdeckel und teflonbeschichteter Gummidichtung, Einmalspritzen (1 ml), Kanüle (0,9 x 70mm, gelb), Eppendorff Reaktionsgefäße (2,5 ml), hochwandige Wanne mit Reaktionsgefäßständern (CO<sub>2</sub>-Beflutung), Eppendorfpipette (1-10 µl; 100-1000 µl), Whirl-Mix, Brutschrank (WTB Binder, Typ 1911530000200, Nr. #9/70555)

### Chemikalien (MERCK)

#### Reduzierender Puffer:

aqua bidest., Natriumchlorid [NaCl (55 mmol/l, 3,21 g/l)], Kaliumchlorid [KCl (20 mmol/l, 1,5 g/l)], Magnesiumchlorid-Hexahydrat [MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (2,5 mmol/l, 0,51 g/l)], Kalziumchlorid-Dihydrat [CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (2,5 mmol/l, 0,37 g/l)], Natriumhydrogencarbonat [NaHCO<sub>3</sub> (50 mmol/l, 4,2 g/l)], Natriumdihydrogenphosphat [NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1 mmol/l, 0,14g/l)], Ammoniumchlorid [NH<sub>4</sub>CL (5 mmol/l, 0,27 g/l)], Natriumsulfat [Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2 mmol/l, 0,28 g/l)], Di-Natriumhydrogenphosphat [Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (5 mmol/l, 0,71 g/l)], Kalium-dihydrogenphosphat [KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (5 mmol/l, 0,68 g/l)], Ammoniumhydrogencarbonat [NH<sub>4</sub>)HCO<sub>3</sub> (6 mmol/l, 0,474 g/l)], Kalium-hydrogencarbonat [KHCO<sub>3</sub> (10 mmol/l, 1,001 g/l)]

Mikrolösung:

Kalziumchlorid-Dihydrat ( $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  (13,2 g/100 ml)), Manganchlorid-Tetrahydrat ( $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  (10,0 g/100 ml)), Kobaltchlorid-Hexahydrat ( $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  (1,0 g/100 ml)), Eisen(III)chlorid-Hexa-hydrat ( $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$  (8,0 g/100 ml)), aqua bidest

Reduktionslösung:

aqua bidest. [ $\text{H}_2\text{O}$  (51,66 ml)], Natronlauge [ $\text{NaOH}$  (1 M, 2,16 ml)], Natriumsulfid [ $\text{Na}_2\text{S}$  (311,0 mg)]

Die Substanzen zur Herstellung des reduzierenden Puffers wurden in einer Sovirelflasche mit aqua bidest (Milipore) unter Rühren bei 39°C aufgelöst und anschließend Mikrolösung (0,125 ml) und Resazurin (1,25 ml) zugegeben. Im folgenden wurde die Lösung im Wasserbad ca. 20-30 min unter Rühren mit  $\text{CO}_2$  begast.

Die Reduktionslösung wurde erst unmittelbar vor der Zugabe zum entgasten Puffer, durch Auflösen von  $\text{Na}_2\text{S}$  in verdünnter  $\text{NaOH}$  hergestellt. Nach Zugabe der Reduktionslösung und der vollständigen Entfärbung des Puffers wurde der Begasungsschlauch aus der Flüssigkeit gezogen und diese nunmehr lediglich mit  $\text{CO}_2$  überschichtet.

Der frisch entnommene Kot wurde zunächst im Wasserbad bei 39°C zwischengelagert. Leere Rollrand-Gläschen wurden mit  $\text{CO}_2$  befüllt und sofort verschlossen.

Mit speziellen Wägeglasschiffchen<sup>9</sup> wurde anschließend der Kot jeweils in ein Rollrandgläschen überführt (ca. 1 g Kot/Tier), dieses direkt mit 9 ml Inkubationslösung aufgefüllt und das Gläschen durch einen Deckel mit teflonbeschichteter Gummidichtung luftdicht verschlossen. Nach gründlichem Durchmischen auf dem Whirlmix wurde die Suspension im Wasserbad bei 39°C temperiert. Die vorbereiteten und mit  $\text{CO}_2$  gefüllten Inkubationsgefäße wurden in einer Wanne permanent mit  $\text{CO}_2$  begast.

Nach erneutem Durchmischen der Kotsuspension wurden jeweils mit einer 1 ml Einmalspritze 600 µl Kotsuspension entnommen. Zur Entnahme wurde mit einer Kanüle die teflonbeschichtete Gummidichtung durchstoßen.

In jedes vorbereitete Inkubationsgefäß wurden jeweils 600 µl Kotsuspension, 20 µg Toxin (in Methanol) sowie 600 µl reduzierender Puffer gegeben. Die Befüllung hatte schnell zu erfolgen, und die Gefäße waren unverzüglich zu verschließen um weitestgehend anaerobe Bedingungen einzuhalten. Nach erneutem Durchmischen wurde die Kot-Toxin-Suspension sofort für 4 bzw. 24 Stunden inkubiert.

---

<sup>9</sup> aus Mineralstoffanalyse

Nach Befüllung der ersten Inkubations-Charge wurde die restliche in den Rollrandgläschen verbleibende Kotsuspension zur Inaktivierung der Mikroorganismen bei 121°C für 20 Min autoklaviert und anschließend ebenfalls, nach der oben beschriebenen Vorgehensweise, portioniert und inkubiert. Nach Ablauf der vorgegebenen Inkubationszeit bei 39°C wurden eventuelle Transformationsvorgänge durch Tieffrieren der Proben bei -20°C gestoppt.

Die Isolierung von DON bzw. gebildeten DOM-1 aus der Kotsuspension erfolgte zunächst durch Zugabe von Methanol zur aufgetauten Probe. Nach Zentrifugation wurde das Toxin bzw. sein Metabolit mittels Ethylacetat über Extrelut-Kartuschen eluiert.

Die erhaltenen Extrakte wurden ohne weitere Aufreinigung mittels HPLC (Säule: Nucleosil C<sub>18</sub>, 250 x 4 mm; Eluent: Methanol/Wasser (20/80); Fluß: 1 ml/min) getrennt und beide Verbindungen nach UV-Detektion (219 nm, konstant) identifiziert und quantifiziert. Die Untersuchung der Kurzzeitinkubationen (4 h), sowie eine qualitative Absicherung der HPLC-Ergebnisse erfolgte nach Derivatisierung der Extrelut-Extrakte mittels GC/MS nach SCHOLLENBERGER et al.; 1998.

#### 4.3.5 Bestimmung von DON/DOM-1 aus Kot

Tiefgefrorener Kot wurde nach dem Auftauen in einem Acetonitril/Wasser-Gemisch (1/3) suspendiert und der DON-Gehalt nach SCHOLLENBERGER et al. (1998) bestimmt.

Auf DOM-1 wurde qualitativ geprüft, d.h. durch Verlust eines Sauerstoffatoms ändert sich die Masse um -16. Damit verschwindet der DON-Peak im Massenspektrogramm und ein neuer, um die Masse 16 verminderter Peak erscheint.

#### 4.3.6 Organe

In *Durchgang A* und *B* wurden zu Versuchsende Dünn- und Dickdarmproben ausgewählter Tiere für weiterführende enzymatische Untersuchungen entnommen. Desweiteren wurden im *Durchgang B* einzelne Tiere aus der unbelasteten Kontrollgruppe (beste Leistung) und der höchsten Belastungsgruppe (geringste Leistung) einer histologischen Untersuchung (gesamter Magen-Darm-Trakt) zugeführt (4.2.7).

##### 4.3.6.1 Probennahme zur histologischen Untersuchung

Die nachfolgend beschriebene Aufarbeitung der histologischen Gewebeproben erfolgte durch das Institut für Umwelt und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik der Universität Hohenheim in Anlehnung an die Untersuchungen von DONG et al. (1991).

Die formalinfixierten Gewebestücke wurden in Paraffin eingebettet und mittels Mikrotom in 6-7 µm dicke Scheiben geschnitten. Nach Färbung mit Hämatoxylin und Eosin (HE-Färbung) wurden die Proben lichtmikroskopisch untersucht. Darüber hinaus wurden Schnitte der Niere mit Anti-IgA-Antikörpern beschickt<sup>10</sup>, um eine mögliche Ablagerung von IgA-Antikörpern in den Nierentubuli nachzuweisen.

#### 4.3.6.2 Aktivitätsbestimmung der mucosalen α-KGDH und ALT (Prinzip)

Für die Bestimmung der Enzymaktivitäten wurden die Gewebeproben nach MADAJ et al. (1999) (α-KGDH) bzw. nach der Arbeitsanweisung des verwendeten Testkits von Boehringer Mannheim (ALT) aufgearbeitet und photometrisch vermessen.

#### *Geräte*

Ultraturrax (IKA-Werke, T 25 basic), Photometer (Beckmann DU 640 Spectrophotometer), Eiswannen, Mikro-/Makroküvetten (Ratiolab, Mikroküvetten 1201 Halbmikro, Makroküvetten 1101), Plastikspatel klein, pH-Meter (Mikroprozessor pH-Meter CG 840, Schott)

#### *Chemikalien (Bezugsquelle s. Tabellennanhang):*

##### PBS (pH 7,2):

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (1,265 g/l), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O (12,10 g/l), NaCl (8,50 g/l), Thimerosal (0,20 g/l)

##### Serva-Blau Reagenz:

Serva Blau (75 mg/l), Ethanol (50 ml/l), Phosphorsäure 85 % (100 ml/l)

##### Extraktionsmedium:

Mannitol (250 mmol, 4,554 g/100 ml), HEPES (5 mmol, 0,119 g/100 ml), EGTA (1 mmol, 0,038 g/100 ml)

---

<sup>10</sup> Prof. Amselgruber, Inst. f. Umwelt und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik, Fachgebiet Anatomie u. Physiologie d. Haustiere, Universität Hohenheim

Reaktionslösung:

Mannitol (250 mM, 4,5540 g/100 ml),  $K_3PO_4 \cdot 7 H_2O$  (10 mM, 0,3384 g/100 ml), Tris-HCl (100 mM, 1,5760 g/100 ml), KCl (10 mM, 0,0746 g/100 ml),  $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$  (5 mM, 0,1017 g/100 ml), Dithiotreitol (1 mM, 0,0154 g/100 ml), Triton X-100 (0,05%, 0,05 ml/100 ml),  $NAD^+$  (2 mM, 0,1327 g/100 ml), Coenzym A (0,63 mM, 0,0484 g/100 ml). Nach der Herstellung wurden 25 ml dieser Lösung als Kontrolllösung entnommen und die Reaktionslösung anschließend durch Zusatz von  $\alpha$ -Ketoglutarat (10 mM, 0,1696 g/75 ml) komplettiert.

Kontrolllösung (25 ml):

Zusammensetzung s. Reaktionslösung ohne Substrat ( $\alpha$ -Ketoglutarat)

ALAT/GPT Testkit (Böhringer Mannheim, MPR 1; 1 087 568)

Eichlösungen zur Ermittlung des Proteingehaltes im Gewebe:

0,0 mg RSA/10 ml PBS-Puffer; 1,0 mg RSA/10 ml PBS-Puffer; 2,5 mg RSA/10 ml PBS-Puffer; 5,0 mg RSA/10 ml PBS-Puffer; 7,5 mg RSA/10 ml PBS-Puffer; 10,0 mg RSA/10 ml PBS-Puffer

Die jeweiligen Substanzen wurden in Meßkolben (100, 1000 ml) eingewogen, mit aqua bidest (Milipore) aufgelöst, auf pH 7,4 eingestellt und auf Eis gekühlt (max. 4°C). Zur Herstellung der Kontrolllösung wurden 25 ml der Reaktionslösung vor Zugabe des Substrates  $\alpha$ -Ketoglutarat entnommen.

*Herstellung der Gewebhomogenate*

Die bei -80°C gelagerten Proben wurden langsam auf Eis aufgetaut und anschließend Gewebhomogenate im Doppelansatz hergestellt. Die Temperatur der Homogenate und Lösungen sollte während aller Präparationsstadien 4°C nicht übersteigen.

Die Probenmenge je Homogenat entsprach ca. 300 mg Gewebe (FS). Nach Zugabe von jeweils 3 ml eiskaltem Extraktionsmedium (Probe/Extr.Med. 1:10), wurde mit dem Homogenisator Ultraturrax T 25 basic auf Stufe B bis C für 15 sec homogenisiert. Während des gesamten Vorgangs wurde das Probengefäß in Eiswasser gekühlt.



*Bestimmung der enzymatischen Aktivitäten und des Proteingehaltes*

Für die Bestimmung des Proteingehaltes und der ALT-Aktivität wurden aus jedem Homogenat weitere Aliquote verdünnt. Die gemessenen Aktivitäten wurden auf den Proteingehalt in der Probe bezogen.

- ALT: 50 µl des hergestellten Homogenats wurden in 450 µl Extraktionsmedium gegeben und gut gemischt (Verdünnung 1:10). Nach Vorbereitung des ALT-Reagenz<sup>11</sup> wurden 600 µl der Reagenzlösung in auf 25°C vorgewärmte Küvetten vorgelegt, 100 µl des entsprechend verdünnten Homogenates zugegeben und vermischt. Die Messung der Extinktionsabnahme erfolgte bei 25°C und einer Wellenlänge von  $\lambda = 340$  nm gegen Luft nach 1, 2, 3 und 4 Minuten.
- $\alpha$ -KGDH: 1000 µl der Reaktionslösung wurden in eine auf 25°C vorgewärmte Mikroküvette vorgelegt, 40µl des eiskalten Gewebekomogenats zugegeben und gut gemischt. Die Messung erfolgte bei 25°C und einer Wellenlänge von  $\lambda = 340$  nm gegen Luft minütlich in der Zeit von 0 bis 10 Minuten.
- Eichkurve: Zur Erstellung der Eichkurve im Doppelansatz wurden jeweils 100 µl der Eichlösung unterschiedlicher Konzentration mit jeweils 1,50 ml Serva-Blau-Lsg. in der Küvette gemischt. Die Extinktionsmessung erfolgte bei 20°C und einer Wellenlänge von 450 bzw. 570 nm. Die Erstellung der Eichkurve erfolgte mittels linearer Regression.
- Proteingehalt: Zur Bestimmung des Proteingehaltes in der Probe wurden 50 µl des Gewebekomogenates (nach 0, im Doppelansatz) mit 1950 µl PBS verdünnt. Nach Vorlage von 1500 µl Serva Blau-Reagenz in eine Mikroküvette wurden jeweils 100 µl der hergestellten Verdünnung zugeben. Die Extinktionsmessung erfolgte bei einer Wellenlänge von 450 bzw. 570 nm. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der Eichkurve.

---

<sup>11</sup> gemäß der Arbeitsvorschrift des Herstellers

#### 4.4 Statistische Auswertung

##### 4.4.1 Lebendmasse, Lebenmassezunahme, IgA, Blutparameter inkl. Elektrophorese

Die Varianzanalyse erfolgte mit dem Statistikprogramm SAS anhand eines Modells für wiederholte Messungen (repeated measures = RM), unter Anwendung der Prozedur "Mixed". Als RM wurden Messungen an gleichen Tieren in verschiedenen Versuchswochen betrachtet. Die Korrelation zwischen zwei Messungen wurde mit der Option "autoregressiv" charakterisiert.

Neben den Faktoren Diät und Dosierung und der Wechselwirkung Dosis/Diät sowie dem Versuchstag wurde das Alter (ausgenommen Futteraufnahme, LM, LMZ) als eine Kovariable berücksichtigt, um dem Einfluß des Alters auf die gemessenen Parameter Rechnung zu tragen.

Die Least Square Means (Lsmeans) und die Standard Error Means (SEM) wurden für die Kombination von Dosis\*Diät für verschiedenen Versuchswochen berechnet und mit der Option PDIFF verglichen für  $p \leq 0,05$ .

##### 4.4.2 Enzymatik

Die Varianzanalyse erfolgte mit dem Statistikprogramm SAS anhand eines Modells für wiederholte Messungen, unter Anwendung der Prozedur "GLM". Die Parallelen am gleichen Tier wurden als Wiederholungen betrachtet. Die Lsmeans für die Dosis und die Diät wurden errechnet und mit der Option PDIFF verglichen.

## 5 ERGEBNISSE

### 5.1 Toxin

#### 1.1.1 Gewinnung von reinem Deoxynivalenol

Insgesamt wurden 315 Babynahrungsgläser mit jeweils 20 g Reismedium (= 6,3 kg Reis) kultiviert. Nach Flüssig-flüssig-Extraktion eines Rohextrakt-Aliquotes mit anschließender HPLC-Bestimmung, lag die gebildete Toxinmenge bei 2,5 bis 3,5 g 3-ADON/kg.

Mittels der überarbeiteten Methode konnten aus 24,75 Liter Reisextrakt insgesamt 9,00 g reines 3-ADON isoliert werden. Dies entspricht einer Ausbeute von ca. 1,4 g kristallinem 3-ADON/kg Reis. Bei der Hydrolyse zu DON konnten die Verluste von bis zu 52 % auf ca. 27 % gesenkt werden (Wiederverwendung des regenerierten Tauschermaterials), wobei 12 % alleine aus dem niedrigeren Molekulargewicht (DON) resultieren.

### 5.2 Futter

#### 5.2.1 Futterzusammensetzung

Die Zusammensetzung der Futtermischungen wurde so konzipiert, daß der Weizenanteil in der getreidefreien Futtervariante durch Kartoffelmehl ersetzt werden konnte. Gravierende Veränderungen in den prozentualen Anteilen der weiteren Futterkomponenten konnten hierbei weitgehend vermieden werden (Abbildung 2).

##### 5.2.1.1 Weender Futtermittel-Analyse

Wie in den nachfolgenden Tabellen dargestellt entsprachen sich nach Weender Futtermittelanalyse die Rohnährstoff- und Energiegehalte beider Futtermischungen annähernd und erfüllten die geforderten Mindestgehalte bzw. lagen in den von der DLG empfohlenen Bereichen<sup>12</sup>.

Die Nährwerte der Futtermischungen entsprachen sich und somit waren beide Futtervarianten vergleichbar (Tabelle 9).

---

#### <sup>12</sup> Quellen

- Mineralstoffgehalte in Futtermitteln, DLG-FutterwertTab. (Arbeiten der DLG, Band 62, DLG-Verlag, Frankfurt/M, 1973): Magermilchpulver, Molkenpulver, Kartoffelstärke, Weizen.
- Nutrient Requirements of Swine (NRC, 1989): Potato Protein Concentrate (Kartoffeleiweiß). Eigene Analysen: Kartoffelpüree.
- Aminosäuregehalte in Futtermitteln, DLG-FutterwertTab.n (DLG-Verlag, Frankfurt/M, 1976)
- Ausschuß für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere. Nr. 4. Schweine. 1987. (DLG-Verlag)
- Leistungs- und Qualitätsgerechte Schweinefütterung. Information 2/1988. DLG.

**Tabelle 9** Weender Analyse der Futtermischungen aller Versuchsabschnitte Ka = getreidefreie Futtermixvariante auf Kartoffelbasis / W = Futtermixvariante auf Weizenbasis / 0 = keine Belastung / 4000 = Belastung mit 4000µg DON/kg Futter (natürlich kont. / künstl. zudosiert) / 6000 = Belastung mit 6000µg DON/kg Futter (natürlich kont. / künstl. zudosiert)

Durchgang	Probe	Futterart	TS [%]	XA [%] TS	XL [%] TS	HCl-Fett [%] TS	XP [%] TS	XF [%] TS	Stärke [%] TS
<b>A</b>	Mix 1	Ka 0 (A)	94,04	7,21	0,69	1,39	22,00	3,49	38,75
	Mix 2	Ka 0 (A)	93,92	7,20	0,70	1,33	22,18	3,70	39,00
	Mix 3	Ka 0 (A)	94,47	6,67	0,71	1,54	23,33	3,77	38,03
	Mix 4	W 0 (A)	92,59	6,45	0,64	1,42	24,43	2,51	36,16
	Mix 5	W 0 (A)	92,25	6,44	0,66	1,42	24,08	2,67	35,84
	Mix 6	W 4000 (A)	92,07	6,34	0,65	1,44	23,79	2,61	37,68
<b>B</b>	Mix 21	W 0 (B)	92,26	6,52	0,54	1,22	24,38	2,39	35,72
	Mix 22	W 0 (B)	92,30	6,21	0,54	1,42	23,52	3,20	34,27
	Mix 23	W 0 (B)	92,21	6,59	0,55	1,44	22,99	2,94	35,57
	Mix 24	W 4000 (B)	92,42	6,99	0,53	1,33	23,72	2,69	35,79
	Mix 25	W 6000 (B)	92,12	6,74	0,61	1,58	22,40	3,02	35,79
<b>C</b>	Mix 32	Ka 0 (C)	93,53	7,56	0,77	1,50	21,68	3,86	38,12
	Mix 33	Ka 0 (C)	93,59	7,44	0,75	1,49	21,71	3,92	38,52
	Mix 34	Ka 0 (C)	93,59	7,66	0,70	1,49	21,61	3,81	38,56
	Mix 35	Ka 0 (C)	93,70	7,52	0,70	1,64	21,66	3,76	37,77
	Mix 36	Ka 0 (C)	93,98	7,18	0,72	1,60	21,89	3,66	38,32

TS = Trockensubstanz, XA = Rohasche, XL = Rohfett, HCl-Fett = säurelös. Fett, XO = Rohprotein, XF = Rohfaser

### 5.2.1.2 Aminosäuren

In den Aminosäuregehalten zeigten sich v.a. im Lysingehalt deutliche Unterschiede. Die getreidefreie Ration wies einen fast doppelt so hohen Gehalt an Lysin auf, wie die Weizenration.

Die Aminosäure-Verhältnisse entsprachen weitestgehend den Empfehlungen der DLG. Lediglich die Threonin-Gehalte lagen im Verhältnis zu den übrigen Aminosäuren unter der empfohlenen Menge (Tabelle 10). Dem ist aber aufgrund des hohen Lysinüberhanges keine Bedeutung beizumessen.

Die Auswahl der Futtermittel wurde unter den Gesichtspunkten einer potentiellen Toxinbelastung ausgewählt, was die Konzeption einer proteinreichen Diät einschloß.

### 5.2.1.3 Vitamine

Die Vitamingehalte in beiden Futtermixvarianten waren vergleichbar und lagen größtenteils im Überschuß vor. Lediglich die Gehalte an Vitamin B1, B6, B12 und Pantothersäure lagen zunächst unter den von der DLG empfohlenen Richtwerten, wobei der Eintrag durch Molke- und Magermilchpulver noch nicht berücksichtigt worden ist (Tabelle 11).

Da die Angaben der DLG praxisorientierte Versorgungsempfehlungen sind, die Richtwerte des NRC teils deutlich niedriger lagen, war gewährleistet, dass die Versuchsdiet den Minimalbedarf sicher abdeckte.

**Tabelle 10** Aminosäuregehalte in den Futtermischungen

<b>Getreidefreie Ration</b>					
<b>Komponente</b>	<b>Anteil [%]</b>	<b>Lysin</b>	<b>Methionin + Cystein [g/kg]</b>	<b>Threonin</b>	<b>Tryptophan</b>
Magermilchpulver	15	3,8	1,7	2,3	0,7
Süßmolkenpulver	15	1,1	0,7	1,2	0,3
Kartoffeleiweiß	14,5	8,2	4,4	6,5	1,5
Kartoffelstärke	10	-	-	-	-
Kartoffel gedämpft	36,5	8	4	5,4	1,4
Mineralfutter	3	-	-	-	-
Öl	2	-	-	-	-
Cellulose	4	-	-	-	-
Summe	100	21,1	10,8	15,4	3,9
Empfehlung (DLG)	Ist	min. 11,5			
AS-Verhältnis	Empfehlung	1	0,5	0,7	0,2
		1	0,6	0,65	0,2

<b>Weizen-Ration</b>					
<b>Komponente</b>	<b>Anteil [%]</b>	<b>Lysin</b>	<b>Methionin + Cystein [g/kg]</b>	<b>Threonin</b>	<b>Tryptophan</b>
Magermilchpulver	15	3,8	1,7	2,3	0,7
Süßmolkenpulver	15	1,1	0,7	1,2	0,3
Kartoffeleiweiß	10	5,6	3	4,5	1
Kartoffelstärke	3	-	-	-	-
Weizen	50	1,6	2,1	1,6	0,7
Mineralfutter	3	-	-	-	-
Öl	2	-	-	-	-
Cellulose	2	-	-	-	-
Summe	100	12,1	7,5	9,6	2,7
Empfehlung (DLG)	Ist	min. 11,5			
AS-Verhältnis	Empfehlung	1	0,6	0,8	0,2
		1	0,6	0,65	0,2

#### 5.2.1.4 Mineralstoff-und Spurenelemente

Die Anforderungen bezüglich des Mineralstoff- und Spurenelementgehaltes waren überwiegend gut erfüllt. Jedoch zeigten sich im Kalzium/Phosphor-Verhältnis Abweichungen im Sinne eines geringen Kalzium-Überschusses sowie eines geringeren Phosphorangebotes, was jedoch den Empfehlungen des NRC entsprach.

Das Calcium/Phosphor-Verhältnis der getreidefreien Ration betrug 2,3:1, das der Weizenration lag bei 2,1:1 (Tabelle 12).

**Tabelle 11 Vitamingehalte in den Futtermischungen (Kalkulation). Zugrundegelegt wurden die Gehalte der Mineral- und Vitaminvormischung (Anteil 3 % in beiden Futtervarianten).**

<b>getreidefreie bzw. Weizenmischung</b>	<b>30 g / kg Ration</b>	<b>Empfehlung GfE</b>
Vitamin A (I.E.)	18000	4000
Vitamin D 3 (I.E.)	1800	300-500
Vitamin E (mg)	60	15
Vitamin K 3 (mg)	0,9	0,15
Vitamin B 1 (mg)	1,0	1,7
Vitamin B 2 (mg)	3,0	2,5
Vitamin B 6 (mg)	2,1	3,0
Vitamin B 12 (mg)	13,5	18,0
Nikotinsäure (mg)	16,5	15-20
Pantothensäure (mg)	9,0	10,0
Folsäure (mg)	0,45	-

Tabelle 12 Mineralstoff- und Spurenelementgehalte in den Futtermischungen (Kalkulation)

<b>Getreidefreie Ration</b>											
<b>Komponente</b>	<b>Anteil [%]</b>	<b>Ca</b>	<b>P</b>	<b>Mg</b>	<b>Na</b>	<b>Zn</b>	<b>Cu</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>J</b>	<b>Se</b>
		<b>[g/kg]</b>				<b>[mg/kg]</b>					
Magermilchpulver	15	2	1,5	0,2	0,7	6,7	0,1	0,1	0,1		
Süßmolkenpulver	15	5,4	2,1	0,4	2,6	-	-	-	-		
Kartoffeleiweiß	14,5	0,2	0,2	-	-	3,6	1,8	0,7	5,8		
Kartoffelstärke	10	-	-	-	-	-	-	-	-		
Kartoffelpüree	36,5	-	0,9	0,3	0,7	3,3	1	1,7	4,5		
Mineralfutter	3	7,2	1,8	0,3	1,5	150	30	60	150	1,8	0,4
Öl	2	-	-	-	-	-	-	-	-		
Cellulose	4	-	-	-	-	-	-	-	-		
Summe	100	14,8	6,5	1,2	5,5	164	32,9	62,5	160,4	1,8	0,4
Empfehlung (GfE, DLG)		11	8	-	2	70	6	15-20	100	0,15	0,2-0,3

<b>Weizen-Ration</b>											
<b>Komponente</b>	<b>Anteil [%]</b>	<b>Ca</b>	<b>P</b>	<b>Mg</b>	<b>Na</b>	<b>Zn</b>	<b>Cu</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>J</b>	<b>Se</b>
		<b>[g/kg]</b>				<b>[mg/kg]</b>					
Magermilchpulver	15	2	1,5	0,2	0,7	6,7	0,1	0,1	0,1		
Süßmolkenpulver	15	5,4	2,1	0,4	2,6	-	-	-	-		
Kartoffeleiweiß	10	0,1	0,2	-	-	2,5	1,3	0,5	4		
Kartoffelstärke	3	-	-	-	-	-	-	-	-		
Weizen	50	0,3	1,6	0,5	-	28	3	15	19		
Mineralfutter	3	7,2	1,8	0,3	1,5	150	30	60	150	1,8	0,4
Öl	2	-	-	-	-	-	-	-	-		
Cellulose	2	-	-	-	-	-	-	-	-		
Summe	100	15	7,2	1,4	4,8	187	34,4	75,6	173,1	1,8	0,4
Empfehlung (GfE, DLG)		11	8	-	2	70	6	15-20	100	0,15	0,2-0,3

### 5.2.2 Natürliche Toxingehalte der Futterhauptbestandteile

Wie aus Tabelle 13 hervorgeht, war auch der unbeimpfte Kontrollweizen (Schlag Lerchenberg) nicht frei von Mykotoxinen. Trotz entsprechender Maßnahmen (Fungizid-Einsatz) war eine Belastung des Getreides mit DON und v.a. auch mit HT-2- und T2-Toxin - wenn auch in sehr geringem Ausmaß - unvermeidbar.

Interessanterweise wies der hochbeimpfte Schlag (Seeacker) eine deutlich geringere DON-Kontamination auf als der mit einer 10fach geringer konzentrierten Sporenlösung beimpfte Schlag (Talacker).

### 5.2.3 Fusarinsäure

Es waren keine mittels GC/MS meßbaren Gehalte an Fusarinsäure im Futter enthalten. Bei einer Nachweisgrenze von 10µg/kg lag somit der eventuelle Fusarinsäuregehalt unter diesem Grenzwert.

**Tabelle 13 Toxingehalte im Getreide bzw. Kartoffelpulver (Schollenberger et al.; 1998)**

<b>Probe</b>	<b>Bezeichnung</b>	<b>mittlerer Gehalt [µg/kg]</b>							
		<b>DON</b>	<b>15-ADON</b>	<b>3-ADON</b>	<b>NIV</b>	<b>FUS</b>	<b>DAS</b>	<b>HT-2</b>	<b>T-2</b>
<b>W LB</b>	Weizen Schlag Lerchenberg ohne Inokulation	78 ± 36	-	-	-	-		58 ± 20	25 ± 12
<b>W TA</b>	Weizen Schlag Talacker Beimpfung mit 50.000 Sporen	11959 ± 1000	28 ± 1	587 ± 600	70	-		n.b.	n.b.
<b>W SA</b>	Weizen Schlag Seeacker Beimpfung mit 500.000 Sporen	8746 ± 1586	-	1000 ± 382	29 ± 11	-		20 ± 2	-
<b>Kartoffel</b>	Kartoffelflocken (Pfanni)	-	-	-	-	-	n.b.	-	-

[ - ] nicht nachweisbar

[ n.b. ] nicht bestimmbar

### 5.2.4 Toxizitätstest (MTT-Test)

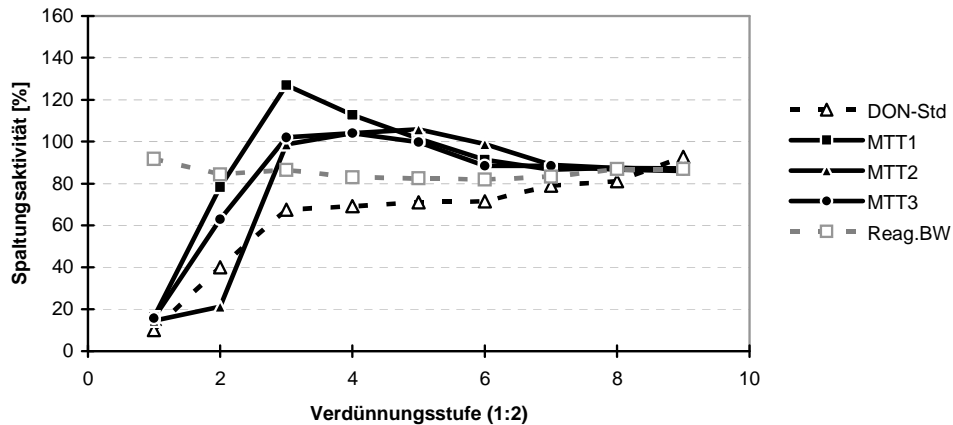
Das Ergebnis der drei unterschiedlich inokulierten Weizenchargen ist in Abbildung 4 dargestellt. Die nicht inokulierten Kontrollen (MTT 1; 0-Weizen, nicht inokuliert) waren lediglich in der ersten Stufe toxisch und zeigten im Vergleich zu den inokulierten Proben (MTT 2 u. 3) eine deutlich geringere Toxizität. Die beiden inokulierten Proben waren bis zur zweiten Verdünnungsstufe (= 200 mg Probenaliquot) toxisch, wobei aber ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Proben anhand der MTT-Teilungsaktivitäten festzustellen war.

Die Extrakte des schwächer inokulierten Weizens (MTT 2) reduzierten die Spaltungsaktivität in wesentlich höherem Maße (Differenz >50 %), was auf höhere zytotoxische Eigenschaften dieses Extraktes hindeutete.

Abweichend von den Ergebnissen der Weizenmatrix zeigte die Kartoffelmischung trotz Toxinfreiheit gegenüber den eingesetzten Zellen eine hohe Eigentoxizität, so dass zytotoxische Effekte noch in den Verdünnungsstufen 5 bis 6 auftraten. Diese Eigentoxizität ließ sich in erster Linie dem Kartoffelbreipulver selbst zuschreiben, da auch bei Untersuchungen der reinen Substanzen (Getreide und Kartoffelbrei) entsprechende Toxizitätsunterschiede beobachtet wurden.



Auch das histologische Bild der geschädigten Zellen von den mit Weizen inkubierten Kulturen unterschied sich deutlich von dem der mit Kartoffel versetzten, was auf ein gänzlich anderes Toxizitätsverhalten hindeutete.



**Abbildung 4** Untersuchung der Zytotoxizität (MTT-Test) von inokulierten Weizen (Sprühinokulation mit *F. culmorum*-Sporen während der Blüte). MTT1: keine Inokulation; MTT2: 50 000 Sporen/ml; MTT3: 500 000 Sporen/ml. Verdünnungsstufe 1:400 mg Probenaliquot bzw. 50 µg DON je ml Medium

### 5.3 Tierexperimentelle Untersuchungen

#### 5.3.1 Allgemeiner Gesundheitsstatus

Das Allgemeinbefinden der Tiere war in allen drei Durchgängen unbeeinträchtigt. Lediglich in der Phase der Einstellung und Anfütterung zeigten die Tiere regelmäßig Durchfall. Die Symptome (dünnbreiige Kotkonsistenz) traten vor jedem der drei Versuchsabschnitte auf und hielten jeweils ca. 10 bis 14 Tage an. Allgemeinbefinden und Appetit waren während dieser Zeit nicht beeinträchtigt. Zu Versuchsbeginn war der Kot wieder von normaler Konsistenz.

#### 5.3.2 Gewichtsentwicklung (LM, LMZ)

Im ersten Versuchsabschnitt (*Durchgang A*) konnten bei restriktiver Fütterung keine Unterschiede sowohl zwischen den beiden Futtervarianten (Weizen- bzw. Kartoffelmischung) als auch zwischen den Behandlungsgruppen festgestellt werden (Tabelle 14). Der Appetit war bei allen Tieren und während des gesamten Zeitraumes unvermindert. Die täglichen Zunahmen der belasteten Tiere erschienen zwar im Trend durchweg etwas geringer, dennoch war nach vier Wochen statistisch kein Toxineffekt erkennbar (Abbildung 5).

Die mittleren Endgewichte lagen bei Toxinbelastung um 1 kg niedriger (restriktive Fütterung) bzw. um 4-8 kg niedriger (ad libitum-Fütterung) bei Einsatz der weizenhaltigen Ration, waren jedoch aufgrund der hohen Standardabweichung statistisch nicht signifikant.

Insgesamt hatte es den Anschein, dass bei getreidefreier Fütterung geringgradig bessere Zunahmen und Gewichte verzeichnet werden konnten, doch auch dies konnte statistisch nicht abgesichert werden.

**Tabelle 14** Mittlere LM (Start, Ende) sowie mittlere tägliche LMZ über den Versuchszeitraum

Durchgang	Futter- variante	DON [µg/kg Futter]	Startgewicht [kg KM]		Endgewicht [kg KM]		mittlere Zunahme [g/Tag]	
			MW	± s	MW	± s	MW	± s
<b>A</b> <i>restriktive Fütterung</i>	Weizen	0	11,8	± 1,26	24,5	± 1,91	493	± 30,5
		4000 <sub>nat.</sub>	11,7	± 1,12	23,6	± 1,53	464	± 28,1
	getreidefrei	0	12,5	± 2,54	25,9	± 4,64	527	± 88,5
		4000 <sub>syn.</sub>	12,4	± 2,07	24,9	± 3,46	493	± 65,0
<b>B</b> <i>ad lib.- Fütterung</i>	Weizen	0	13,0	± 1,90	34,6	± 4,00	594	± 73,0
		4000 <sub>nat.</sub>	13,2	± 1,80	29,9	± 3,10	469	± 49,7
		6000 <sub>nat.</sub>	12,0	± 1,70	26,1	± 2,90	401	± 50,8
<b>C</b> <i>ad lib.- Fütterung</i>	getreidefrei	0	12,9	± 1,90	31,4	± 3,50	539	± 57,3
		4000 <sub>syn.</sub>	12,8	± 1,70	30,0	± 3,40	494	± 56,3
		6000 <sub>syn.</sub>	12,9	± 1,60	30,3	± 3,30	503	± 56,6

\* nat = natürlich kontaminiert, syn = synthetisches DON zudosiert

**Tabelle 15** Gewichtsentwicklung in Durchgang A

Parameter	Tag	Ls-means [Dosis*Diät]				SEM	sig. Fakt.* $p \leq 0,1$
		W 0	W 4000	Ka 0	Ka 4000		
<b>LM</b>	0	11,8	11,7	12,5	12,4	0,40	Einfluß der Toxindosierung
	7	14,5	13,9	15,3	14,8	1,01	
	14	17,8	17,4	18,9	18,3	1,19	
	21	22,2	21,4	23,7	22,5	1,34	
	28	25,4	24,1	26,8	25,7	1,50	

\*Anm.: signifikanter Faktor gilt nicht für Tag 0

LM = Lebendmasse, W = Weizen, Ka = Kartoffel, 0/4000 = Toxinkonzentration in µg DON/kg Futter

Tabelle 16 Tägliche Zunahmen und täglich aufgenommene Futtermenge in *Durchgang A*

Parameter	Woche	Ls-means [Dosis*Diät]				SEM	sign. Fakt. $p \leq 0,1$
		W 0	W 4000	Ka 0	Ka 4000		
LMZ	1	394,4	320,2	402,6	348,6	36,88	Einfluß der Toxindosierung
	2	471,4	494,4	514,2	500,0	37,11	
	3	620,2	574,4	683,0	582,8	30,16	
	4	545,2	375,6	446,8	449,8	31,46	
FA	1	508,0	505,4	530,6	527,8	26,46	
	2	637,0	611,2	658,8	641,4	33,67	
	3	828,4	828,2	872,0	851,4	43,82	
	4	1040,8	1011,2	1093,0	1049,4	45,30	

LM = Lebendmasse, FA = Futteraufnahme, W = Weizen, Ka = Kartoffel, 0/4000 = Toxinkonzentration in  $\mu\text{g}$  DON/kg Futter

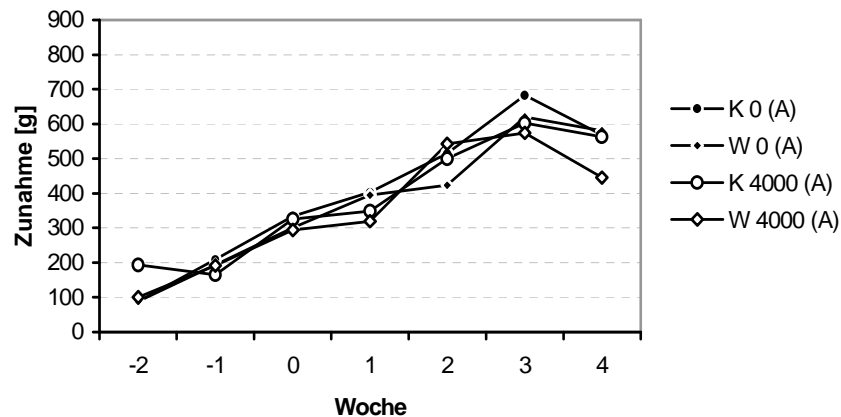


Abbildung 5 Mittlere tägliche Zunahmen [g/Tag] über den gesamten Beobachtungszeitraum im ersten Versuchsabschnitt (*Durchgang A*, Einstellungsgewicht nicht berücksichtigt). Versuchsbeginn war ab Woche 0. W = Weizen; Ka = Kartoffel; 0 = unbelastet; 4000 = 4000  $\mu\text{g}$  DON/kg

Im zweiten Versuchsabschnitt (*Duchgang B*, Fütterung ad libitum) waren im Gegensatz dazu deutliche, konzentrationsabhängige Unterschiede in der Gewichtsentwicklung zu verzeichnen. Mit der Verabreichung der ersten kontaminierten Rationen war der Appetit sichtlich herabgesetzt und die täglichen Zunahmen bereits in der ersten Woche deutlich reduziert (Abbildung 6). Signifikante Unterschiede ergaben sich zwischen der hochdotierten Gruppe und der Kontrolle, bei der mittleren Toxingruppe war ein deutlicher Trend, aber aufgrund der Streuung noch kein signifikanter Unterschied zu verzeichnen.

**Tabelle 17** Mittlere Gewichtsentwicklung (LM) in den Durchgängen B und C

Parameter	Zeit	Ls-means [Dosis*Diät]						SEM	sig. Faktor* [p ≤ 0,05]
	Tag	W 0	W 4000	W 6000	Ka 0	Ka 4000	Ka 6000		
LM [kg]	0	13,00	13,20	12,00	12,90	12,80	12,90	0,460	Einfluß der Toxindosierung
	7	18,0	16,7	14,8	16,4	16,2	16,2	0,98	
	14	24,0	21,5	18,4	21,2	20,5	20,5	1,22	
	21	29,3	26,0	22,4	26,5	25,2	25,5	1,38	
	28	34,6	29,9	26,1	31,4	29,9	26,1	1,51	

\* Anm.: signifikanter Faktor gilt nicht für Tag 0

Bei Betrachtung der Gewichtsentwicklung über den gesamten Versuchszeitraum von 4 Wochen wurde der Einfluß der Toxindosierung deutlich erkennbar und die niedrigere Gewichtsentwicklung beider Belastungsgruppen war signifikant ( $p \leq 0,05$ ) gegenüber der Kontrolle (Tabelle 17).

**Tabelle 18** Mittlere Zunahmen (LMZ) und mittlere Futteraufnahme (FA) in den Durchgängen B und C

Parameter	Zeit	Ls-means [Dosis*Diät] Durchgang B			Ls-means [Dosis*Diät] Durchgang C			SEM	sig. Faktor [p ≤ 0,05]
	Wo	W 0	W 4000	W 6000	Ka 0	Ka 4000	Ka 6000		
LMZ	1	717,0	508,6	305,8	494,0	480,0	474,2	44,51	Einfluß der Toxindosis u. WW* von Toxindosis in Verbindung mit Diät
	2	851,4	674,2	506,0	691,4	611,4	614,4	44,22	
	3	757,2	651,4	574,2	740,2	674,4	717,0	55,59	
	4	768,4	551,4	525,6	702,8	688,6	680,2	38,15	
FA	1	919,0	785,8	605,0	653,6	648,2	633,4	47,10	Einfluß der Toxindosis, der Diät, der Vers.woche u. WW* von Toxindosis in Verbindung mit Diät
	2	1126,8	941,2	712,0	861,2	818,0	814,6	61,52	
	3	1251,6	1107,8	905,6	1068,2	999,4	1006,4	77,68	
	4	1505,6	1125,4	992,4	1188,6	1108,4	1099,8	73,40	

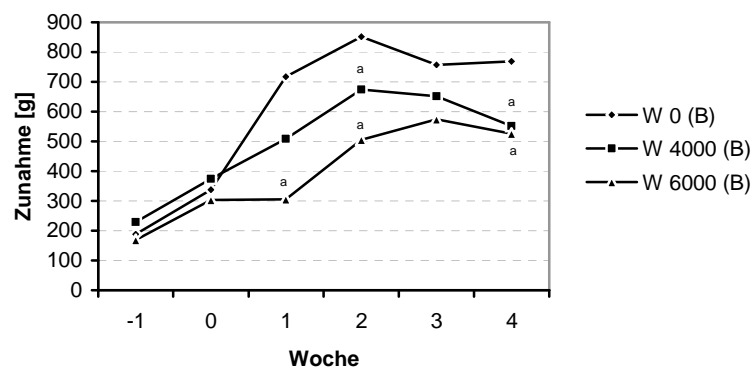
\*WW = Wechselwirkung

Die Auswertung nach Einzelwochen zeigte (Tabelle 17), dass bereits in der ersten Woche die Gewichte der hochbelasteten Tiere (Durchgang B,  $\text{DON}_{\text{nat}}$  6000 µg/kg Futter) signifikant niedriger lagen, als die der Kontrolltiere ( $p \leq 0,05$ ). In der zweiten Versuchswoche wurde ein deutlicher Trend zwischen den beiden Behandlungsgruppen erkennbar ( $p \leq 0,1$ ).

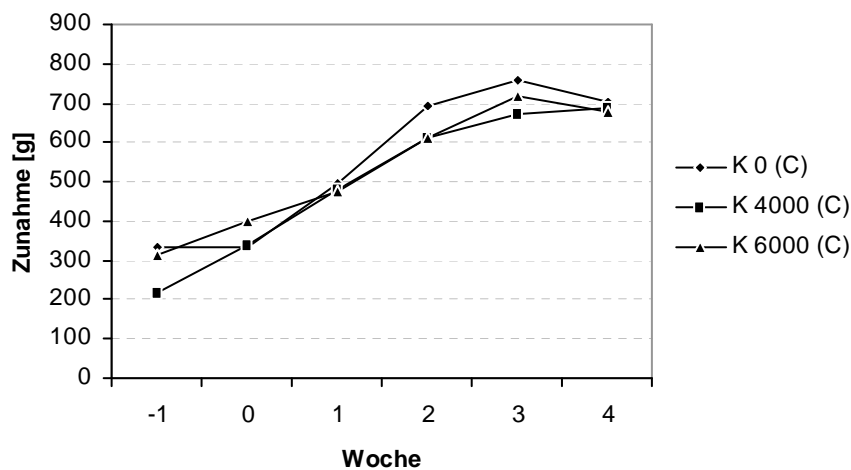
Die Divergenz der Gruppen vergrößerte sich in der dritten Woche noch weiter, sodass letztlich nach vierwöchiger Toxinverabreichung einerseits zwischen der Kontrollgruppe und den beiden Behandlungsgruppen ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Gewichtsentwicklung auftrat ( $p = 0,05$ ) und andererseits zwischen den beiden Belastungsgruppen ein deutlicher Trend hinsichtlich toxinbedingter Wachstumseinbußen zu verzeichnen war ( $p \leq 0,1$ ).

Obwohl in diesem Versuchsabschnitt eine Wechselwirkung von Toxindosis und der eingesetzten Diät ermittelt werden konnte, zeigte sich die Diät selbst ohne Einfluß. Ebenfalls signifikant ist der Unterschied zwischen den Kontrollgruppen in den *Durchgängen B* und *C* in der zweiten ( $p \leq 0,01$ ) und dritten ( $p \leq 0,05$ ) Versuchswoche.

Im letzten Versuchsabschnitt (Durchgang C) war kein Einfluß des Toxins auf die Leistungsparameter LM und LMZ erkennbar. Die Verabreichung des reinen Toxins in einer getreidefreien Futtermischung ließ keine Unterschiede zwischen den Kontroll- und Belastungsgruppen bzw. innerhalb der Belastungsgruppen erkennen (Abbildung 7, Tabelle 18).



**Abbildung 6** Mittlere tägliche Zunahmen [g/Tag] über den gesamten Beobachtungszeitraum im zweiten Versuchsabschnitt (*Durchgang B*, Einstellungsgewicht nicht berücksichtigt). Versuchsbeginn ist ab Woche 0. W = Weizen; 0/4000/6000 = 0, 4000 bzw. 6000 µg DONnat/kg. a signifikant unterschiedl. zur Kontrolle



**Abbildung 7** Mittlere tägliche Zunahmen [g/Tag] über den gesamten Beobachtungszeitraum im dritten Versuchsabschnitt (*Durchgang C*, Einstallungsgewicht nicht berücksichtigt). Versuchsbeginn ist ab Woche 0. Ka = Kartoffel; 0/4000/6000 = 0, 4000 bzw. 6000 µg DONrein/kg

Zusammenfassend ist festzustellen, dass im zweiten Versuchsabschnitt (*Durchgang B*) bereits in der ersten Versuchswoche ein eindeutiger, konzentrationsabhängiger Effekt von DON auf die Leistungsparameter Lebendmasse und Lebendmassezunahme zu erkennen war. Dies zeigte sich jedoch nur bei ad libitum-Fütterung einer natürlich kontaminierten Weizenration.

Bei Verabreichung von reinem Deoxynivalenol in einer getreidefreien Diät ähnlicher Zusammensetzung und Rohnährstoffgehalte war kein Einfluß des Toxins, unabhängig von der gewählten Dosierung, zu verzeichnen.

### 5.3.3 Futteraufnahme

Im ersten Versuchsabschnitt (*Durchgang A*) war, unter restriktiver Fütterung im Fall von jeweils 4000 µg DON/kg Futter, weder ein Toxineffekt noch ein Einfluß der Diät (Weizen/Kartoffel) ersichtlich. Sowohl bei der Betrachtung über den gesamten Versuchszeitraum, als auch in den einzelnen Versuchswochen waren keine toxinbedingten Veränderungen festzustellen.

Die Futteraufnahme der belasteten Tiere unterschied sich versuchsbedingt nicht von der der jeweiligen Kontrolltiere. Allenfalls traten in beiden Futtervarianten unter Toxinbelastung leichte Tendenzen hinsichtlich geringerer Futteraufnahme auf.

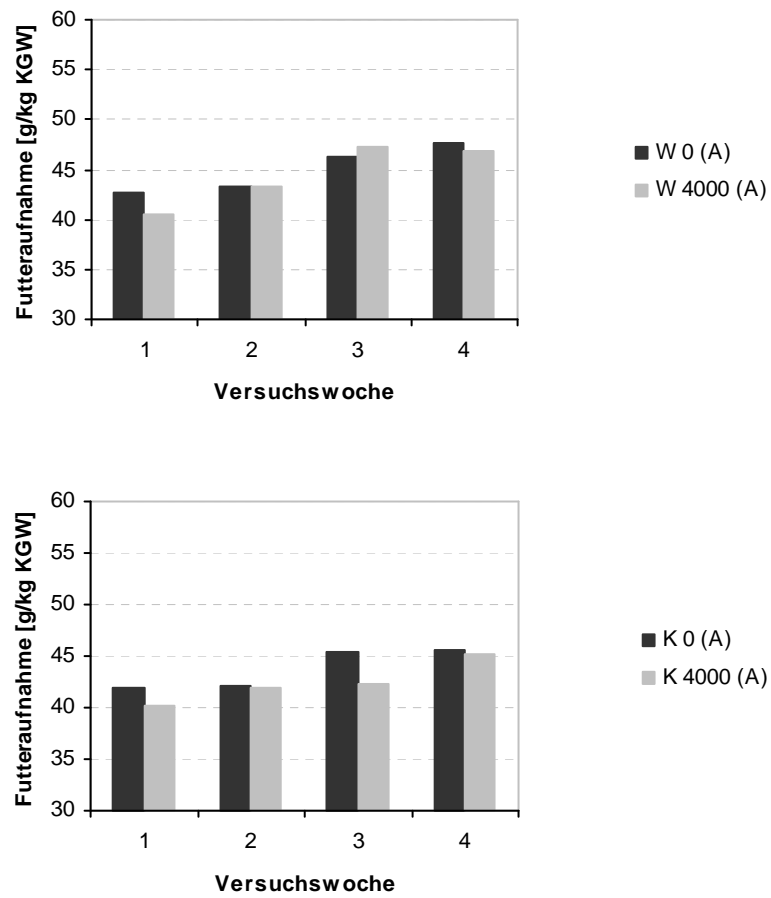
Generell schien die Futteraufnahme der getreidefrei gefütterten Tieren geringgradig besser auszufallen, als die der mit Weizen gefütterten Tiere (Abbildung 8). Die Futtermittelverwertung dagegen schien sich unter Toxinbelastung zu verschlechtern.

In *Durchgang B* (ad libitum, 4000 u. 6000 µg DON/kg Futter, natürlich kontaminierter Weizen) zeigten sich bei der Auswertung über den gesamten Versuchszeitraum die Unterschiede bezüglich der aufgenommenen Futtermengen zwischen der hohen Belastungsgruppe (DON<sub>nat</sub> 6000 µg/kg Futter) und der Kontrolle hochsignifikant ( $p \leq 0,0001$ ). Auch die Tiere der mittleren Belastungsgruppe (DON<sub>nat</sub> 4000 mg/kg Futter) nahmen signifikant weniger Futter auf als die der Kontrolle ( $p \leq 0,01$ ). Die Futteraufnahme innerhalb der beiden Toxingruppen zeigte ebenfalls einen starken Trend auf ( $p \leq 0,1$ ).

Bei Betrachtung der Einzelwochen zeigte sich bereits in der ersten Versuchswoche ein signifikanter Toxineffekt, sowohl innerhalb der beiden Behandlungsgruppen ( $p \leq 0,05$ ) als auch zwischen der Kontrollgruppe und den beiden Behandlungsgruppen. Nach drei Wochen verschwindet scheinbar der Toxineffekt zwischen Kontrolle und mittlerer Belastung (DON<sub>nat</sub> 4000 mg/kg Futter).

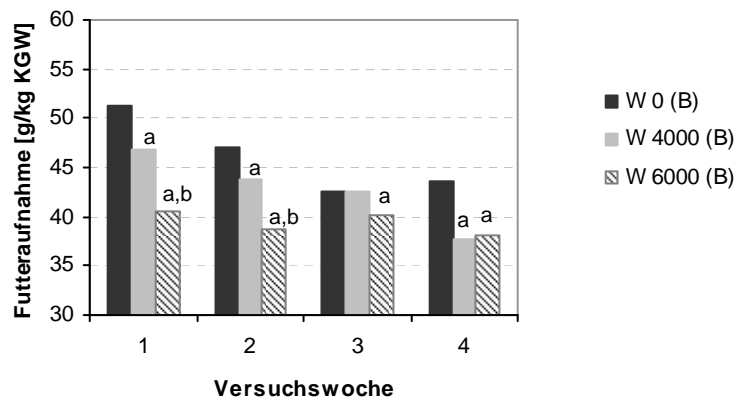
Der Unterschied zwischen den beiden Behandlungsgruppen verschwindet ebenfalls in der dritten Versuchswoche. Lediglich bei den hochbelasteten Tieren läßt sich in den beiden letzten Versuchswochen nach wie vor eine signifikant verminderte Futteraufnahme gegenüber den Kontrollen feststellen ( $p \leq 0,005$ ). Auch in der mittleren Belastungsgruppe (DON<sub>nat</sub> 4000 mg/kg Futter) tritt in Woche 4 wieder ein signifikanter Unterschied zur Kontrolle auf ( $p \leq 0,001$ ).

Im letzten Versuchsabschnitt (*Durchgang C*) waren zu keinem Zeitpunkt Unterschiede in der Gewichtsentwicklung, den tägl. Zunahmen und Futteraufnahme und –verwertung festzustellen (Abbildung 10, Tabelle 17).

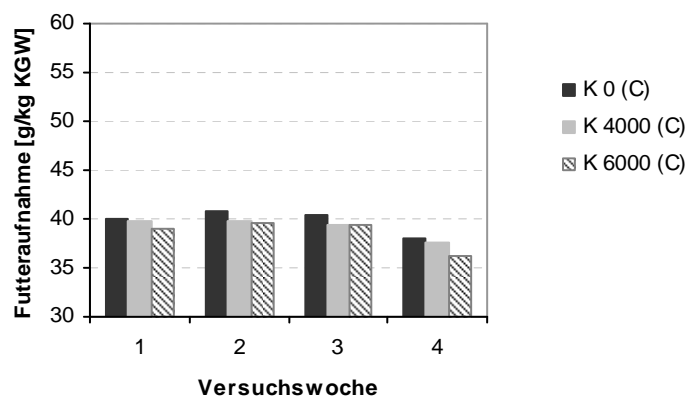


**Abbildung 8** Mittlere Futtermittelaufnahme [g TS/kg KGW] während des Versuchszeitraumes in Durchgang A. W = Weizen; Ka = Kartoffel; 0 bzw. 4000 = 0 bzw. 4000 µg DON/kg





**Abbildung 9** Mittlere Futteraufnahme [g TS/kg KGW] während des Versuchszeitraumes in *Durchgang B*. W = Weizen; 0, 4000, 6000 = 0, 4000, 6000 µg DON/kg; a = sign. zur Kontrolle, b = sign. zur jeweils anderen Belastungsgruppe



**Abbildung 10** Mittlere Futteraufnahme [g TS/kg KGW] während des Versuchszeitraumes in *Durchgang C*. Ka = Kartoffel; 0, 4000, 6000 = 0, 4000, 6000 µg DON/kg

## 5.4 Weitere Untersuchungen

### 5.4.1 Blut

In allen drei Durchgängen lagen die untersuchten Blutparameter größtenteils innerhalb der jeweiligen Referenzbereiche und ließen keine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens erkennen. Wenige sporadische Veränderungen einiger Parameter traten bei einzelnen Tieren und inkonstant bei Vertretern aller Gruppen auf und konnten somit nicht immer eindeutig einer Toxineinwirkung zugeschrieben werden (Tabelle 19). Viele der gemessenen Parameter zeigten sich durch die Diät beeinflusst. Auch wurden altersabhängige Variationen offensichtlich, die sich zum Teil auch in einem Einfluß des Versuchstages niederschlugen.

Eindeutige Toxineffekte waren im ersten Versuchsabschnitt lediglich bei den Parametern SDH und T4 zu sehen. Hierbei muß beachtet werden, dass SDH hauptsächlich zu Versuchsbeginn und lediglich durch das reine Toxin beeinflusst scheint und auch nur in der mittleren Belastungsgruppe (Weizengruppe mit 4000 µg DON/kg Futter) (Abbildung 11). Bis zum Zeitpunkt des größten Unterschiedes wurde noch gar kein Toxin verabreicht und die Gehalte gleichen sich mit fortdauerndem Versuchszeitraum wieder an.

T4 zeigte dagegen ausschließlich in der Kartoffelgruppe erhöhte Werte was erst gegen Versuchsende signifikant wurde (Abbildung 12).

**Tabelle 19** Veränderungen der Blutparameter in *Durchgang A* in Abhängigkeit des signifikanten Faktors. W = Weizen; Ka = Kartoffel; 0/4000/6000 = 0/4000/6000 µg DON/kg

Parameter	Zeit	Ls-means [Dosis*Diät]				SEM	sig. Fakt [ $p \leq 0,05$ ]
	Tag	W 0	W 4000	Ka 0	Ka 4000		
Glucose [mg/dl]	0	89,75	93,00	89,80	91,40	4,753	Einfluß durch Alter
	14	97,00	109,80	93,20	84,00	22,833	
	28	102,00	100,60	82,00	93,00	4,818	
Triglyceride [mg/dl]	0	31,25	34,67	40,80	35,00	3,700	Einfluß der Diät
	14	27,20	33,40	43,60	29,80	4,876	Einfluß durch WW
	28	25,20	28,00	47,00	29,80	3,244	Dosis*Diät
Bilirubin [mg/dl]	0	0,38	0,37	0,38	0,40	0,013	Einfluß in Bezug auf den Versuchstag
	14	0,13	0,13	0,17	0,15	0,019	
	28	0,29	0,29	0,31	0,28	0,013	
ALT (GPT) [U/l]	0	13,75	11,67	16,00	20,80	1,511	Einfluß der Diät
	14	14,20	16,20	20,80	28,60	2,418	
	28	17,20	18,00	23,80	25,80	2,111	
GGT [U/l]	0	20,00	19,67	20,00	14,00	2,290	(Einfluß durch WW* Dosis* Diät)
	14	19,00	23,00	23,00	16,00	2,414	
	28	19,40	23,60	25,00	16,80	2,206	
Alk. Phosph. [U/l]	0	359,25	416,33	340,20	372,20	38,349	Einfluß durch Alter und in Bezug auf den Versuchstag
	14	411,00	465,00	393,00	376,40	45,000	
	28	345,60	384,00	392,00	364,00	22,181	
SDH [U/l]	0	0,20	1,27	0,37	0,50	0,068	Einfl. d. Dosis, d.Diät
	14	0,21	0,68	0,40	0,48	0,081	WW Dosis*Diät u.
	28	0,52	0,34	0,39	0,34	0,126	WW Veruchstag*Dosis
Harnstoff [mg/dl]	0	17,75	18,67	10,60	10,40	2,009	Einfluß durch Diät
	14	23,00	20,40	16,40	16,20	1,190	
	28	31,60	26,40	26,60	26,60	2,395	
Anorg. Phosphat [mmol/l]	0	2,55	2,53	2,64	2,47	0,140	Einfluß durch Diät
	14	2,37	2,13	3,13	2,57	0,465	
	28	2,84	2,88	3,46	2,98	0,127	
T4 [µg/dl]	0	3,40	4,30	3,20	3,32	0,351	Einfluß durch Dosis
	14	3,72	4,30	3,80	4,16	0,273	
	28	4,32	5,12	3,74	6,06	0,457	

\*WW = Wechselwirkung

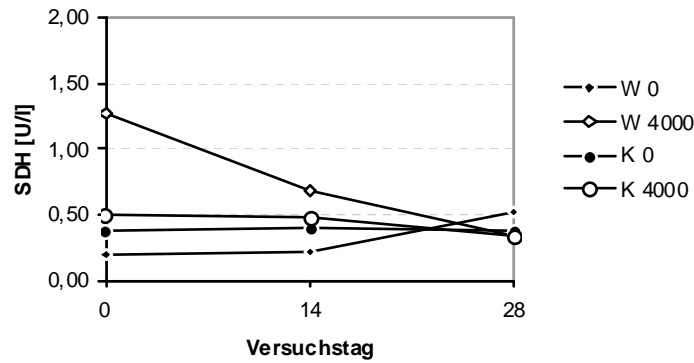


Abbildung 11 Mittlere SDH-Werte im Serum in *Durchgang A*.

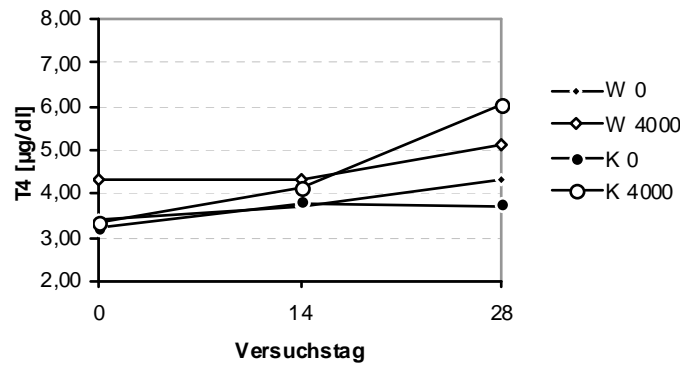


Abbildung 12 Mittlere T4-Gehalte im Serum in *Durchgang A*.

Im zweiten Versuchsabschnitt (*Durchgang B*) zeigte sich ein signifikanter Effekt des Toxins auf den Triglyceridhaushalt (Abbildung 13). In der mittleren Belastungsgruppe in *Durchgang B* waren deutlich höhere Triglyceridgehalte zu messen als in den anderen beiden Gruppen.

Die Bilirubin-Gehalte stiegen in *Durchgang C* mit fortschreitender Versuchsdauer in allen Gruppen gleichmäßig moderat an. In *Durchgang B* dagegen waren bei Versuchsbeginn auffällig höhere Werte zu messen, die im Versuchsverlauf gleichmäßig abnahmen (Abbildung 14).

Die anfänglich signifikanten Veränderungen der Alkalischen Phosphatase in *Durchgang B* verlieren sich in der zweiten Versuchshälfte (Abbildung 15).

Im Gegensatz zum ersten Durchgang wurden im zweiten Versuchsabschnitt die SDH-Werte nur durch DON aus natürlicher Kontamination beeinflusst, wobei die Werte im Versuchsverlauf deutlich ansteigen (Abbildung 16).

Das Schilddrüsenhormon T4 war in den ad libitum-Versuchen (Durchgang B und C) unbeeinflusst. Jedoch liegen die Werte in der Weizengruppe deutlich höher, was den Einfluß der Diät aufzeigt (Abbildung 17).

**Tabelle 20**      **Veränderungen der Blutparameter in den Durchgängen B u. C in Abhängigkeit des signifikanten Faktors**

Parameter	Zeit	Ls-means [Dosis*Diät]						SEM	sig. Fakt [p ≤ 0,05]
		W 0	W 4000	W 6000	Ka 0	Ka 4000	Ka 6000		
<b>Glu</b>	0	101,00	102,40	100,60	84,25	94,00	82,00	5,310	Einfluß d. Diät u. d.Versuchstags
	14	114,60	114,20	105,00	101,20	103,60	100,20	3,828	
	28	116,00	113,20	111,80	98,20	99,00	100,00	4,143	
<b>Triglyceride [mg/dl]</b>	0	39,00	48,80	34,80	24,25	30,00	31,60	4,228	Einfluß d. Diät
	14	29,60	48,80	33,60	26,00	35,00	34,00	3,195	Dosierung u. WW*
	28	24,60	38,40	30,20	26,80	30,80	29,25	3,618	Versuchstag/Diät
<b>Cholesterin [mg/dl]</b>	0	80,50	89,80	82,80	63,00	61,40	67,00	5,179	Einfluß d. Diät
	14	87,00	84,40	76,00	65,00	67,20	62,60	4,774	
	28	87,20	81,20	85,40	71,60	75,20	63,75	5,550	
<b>Bilirubin [mg/dl]</b>	0	0,22	0,21	0,31	0,07	0,10	0,11	0,043	Einfluß d. Ver- suchstags, WW
	14	0,08	0,09	0,10	0,12	0,13	0,15	0,009	Versuchstag/Diät
	28	0,08	0,09	0,10	0,17	0,16	0,15	0,015	
<b>ALT (GPT) [U/l]</b>	0	17,77	16,24	13,23	14,88	21,23	15,12	1,516	Einfluß d. Vtags*, WW d Vtags/Diät
	14	22,86	18,48	18,44	16,78	23,88	20,74	2,520	WW Dosis/Diät
	28	17,78	16,96	15,50	19,06	25,66	22,03	1,649	
<b>GLDH [U/l]</b>	0	0,40	0,45	0,59	0,65	0,47	0,56	0,116	WW Dosis/Diät
	14	0,27	0,43	0,85	0,89	0,57	0,57	0,239	
	28	0,26	0,33	0,40	0,49	0,63	0,44	0,059	
<b>Alk. Phosph. [U/l]</b>	0	478,88	345,66	458,00	286,00	415,60	339,40	36,338	WW Dosis/Diät,
	14	428,00	322,80	286,60	352,80	350,80	320,60	27,158	WW Vtag/Diät
	28	392,00	293,20	315,20	346,20	349,00	307,25	27,783	Vtag/Dosis/Diät
<b>SDH [U/l]</b>	0	1,09	1,49	1,18	1,07	1,62	1,31	0,477	WW
	14	0,69	0,89	0,52	0,68	1,16	1,08	0,187	Versuchstag/Diät
	28	0,99	1,17	1,62	0,47	0,35	0,52	0,130	
<b>Harnstoff [mg/dl]</b>	0	24,80	22,13	20,68	21,68	20,70	18,72	1,730	Einfluß der Diät
	14	23,70	22,26	17,52	18,44	18,02	20,12	1,844	WW Dosis/Diät
	28	31,00	31,60	24,60	20,94	20,70	23,38	2,584	WW Vtag/Diät
<b>Kreatinin [mg/dl]</b>	0	0,95	1,13	0,84	0,81	0,81	0,86	0,062	
	14	1,00	1,06	1,03	0,88	0,89	0,99	0,047	
	28	0,96	1,06	1,00	0,99	0,91	1,00	0,053	
<b>T3 [µg/dl]</b>	0	36,24	30,70	41,74	40,13	73,42	67,58	11,678	Einfluß d. Ver- suchstags, WW Vtag/Diät
	14	78,80	73,20	68,40	65,12	82,78	61,04	11,888	
	28	79,40	68,20	71,00	67,94	71,06	68,30	11,945	
<b>T4 [µg/dl]</b>	0	5,40	4,84	4,84	2,73	3,66	4,00	0,501	Di
	14	5,58	5,84	5,62	3,98	3,66	3,98	0,434	
	28	6,22	6,28	5,94	4,78	4,30	4,93	0,439	
<b>IgA [mg/ml]</b>	0	0,48	0,54	0,61	0,47	0,48	0,48	0,057	Einfluß v. Alter, Diät
	28	0,75	0,79	0,91	0,58	0,65	0,71	0,074	Dosis, Diät, WW Vtag/Diät

\* Vtag = Versuchstag

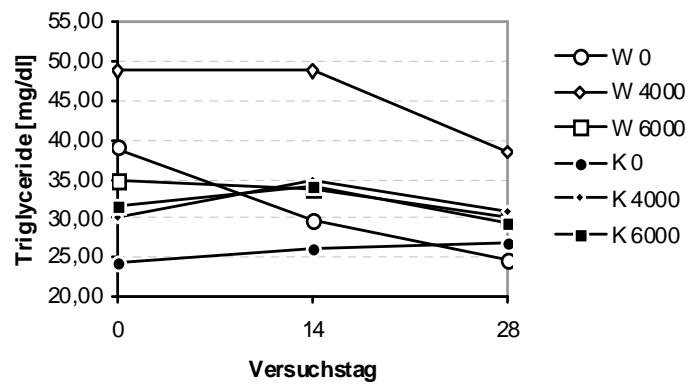


Abbildung 13 Mittlere Triglycerid-Werte im Serum in den Durchgängen B und C.

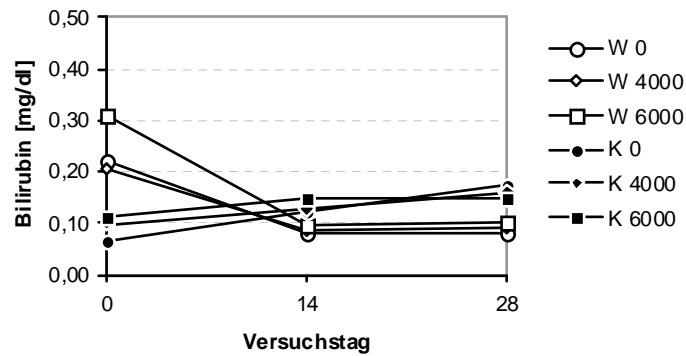


Abbildung 14 Mittlere Bilirubin-Werte im Serum in den Durchgängen B und C.

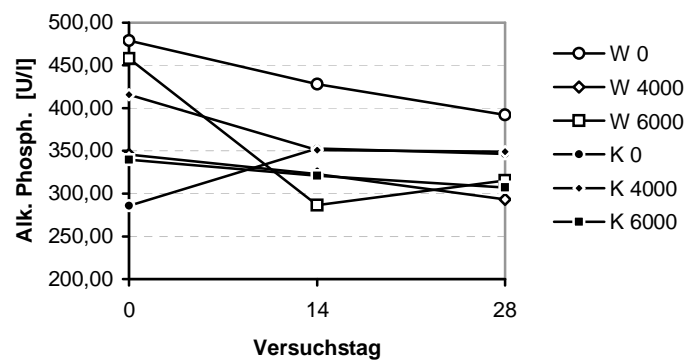


Abbildung 15 Mittlere Alk. Phosphatase-Werte im Serum in den Durchgängen B und C.

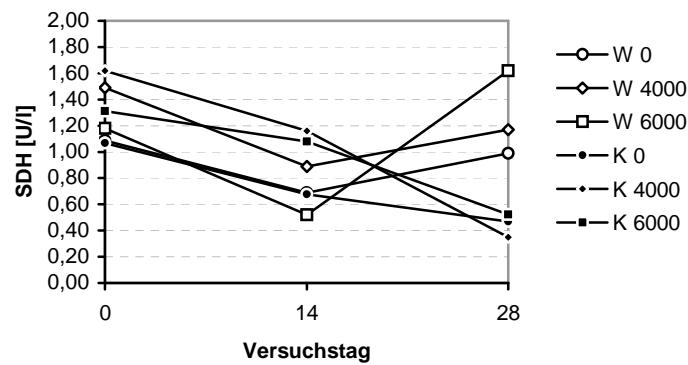


Abbildung 16 Mittlere SDH-Werte im Serum in den *Durchgängen B und C*.

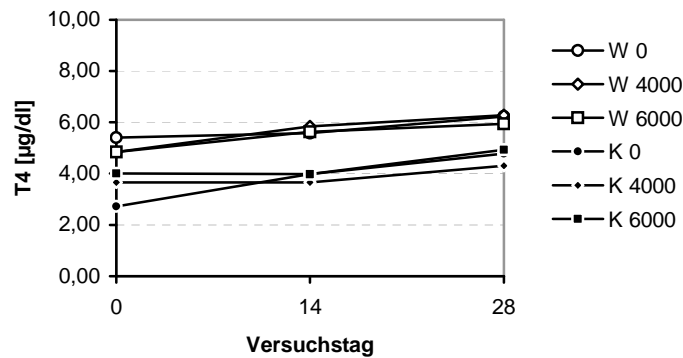


Abbildung 17 Mittlere T4-Werte im Serum in den *Durchgängen B und C*.

Die Serum-Protein-Elektrophorese ergab lediglich gruppenunabhängige vorübergehende Veränderungen (Tabelle 21). Mit dem Alter nahm auch der Gesamteiweißgehalt zu, wobei diese Zunahme bei Toxineinwirkung geringer ausfiel.

Durchgehend war ein leichter, altersabhängiger Anstieg des Albumingehaltes festzustellen, der aber nur im Zusammenhang mit einer natürlichen Belastung ( $\text{DON}_{\text{nat}}$ ) bei ad libitum-Fütterung (*Durchgang B*) geringgradig stärker erschien. Dies ließ sich in den *Durchgängen A* (beide Futtermvarianten) und *C* ( $\text{DON}_{\text{synth.}}$ ) nicht wiederfinden. Demgegenüber zeigten die Gehalte der  $\alpha$ -Globulin-Fraktion durchweg eine geringgradige altersabhängige Abnahme.



Tabelle 21 Albumin-und Globulin-Gesamtfraktion [%] im Serum in *Durchgang A*

Parameter	Zeit	Ls-means [Dosis*Diät]				SEM	sig. Fakt $p \leq 0,05$
		W 0	W 4000	Ka 0	Ka 4000		
TP [g/dl]	0	5,3	5,2	5,3	5,3	0,16	Einfluß des Versuchstags
	14	4,8	4,5	5,6	4,8	0,92	
	28	6,6	5,9	6,2	5,9	0,41	
Albumin [%]	0	39,6	44,1	40,7	40,5	2,35	Einfluß durch Alter, Versuchstag und WW Dosis*Diät
	14	44,3	46,3	45,6	42,7	2,46	
	28	49,3	51,4	51,2	51,3	1,84	
a1-Globulin [%]	0	20,4	19,1	20,7	20,6	0,72	
	14	18,0	17,0	15,0	15,2	2,63	
	28	10,3	14,4	12,5	15,1	2,58	
a2-Globulin [%]	0	7,8	7,7	8,0	8,4	0,56	(Einfluß durch Dosierung)
	14	5,6	5,7	8,0	7,4	2,20	
	28	10,0	6,3	7,7	5,8	1,58	
b1-Globulin [%]	0	15,1	15,9	15,4	14,9	0,77	Einfluß des Versuchstags
	14	16,1	14,9	15,7	16,1	0,96	
	28	10,7	13,9	12,1	13,8	1,42	
g-Globulin [%]	0	15,7	14,5	13,2	13,0	1,85	Einfluß des Alters (und des Versuchstags)
	14	15,8	16,0	13,9	18,1	2,54	
	28	19,4	13,9	15,4	15,4	3,20	
Alb/Glob	0	3,7	-1,9	4,3	15,0	12,13	
	14	0,8	0,9	0,9	0,7	0,07	
	28	1,0	1,1	1,1	1,0	0,07	

Tabelle 22 Albumin-und Globulin-Gesamtfraktion [%] im Serum in den *Durchgängen B u. C*

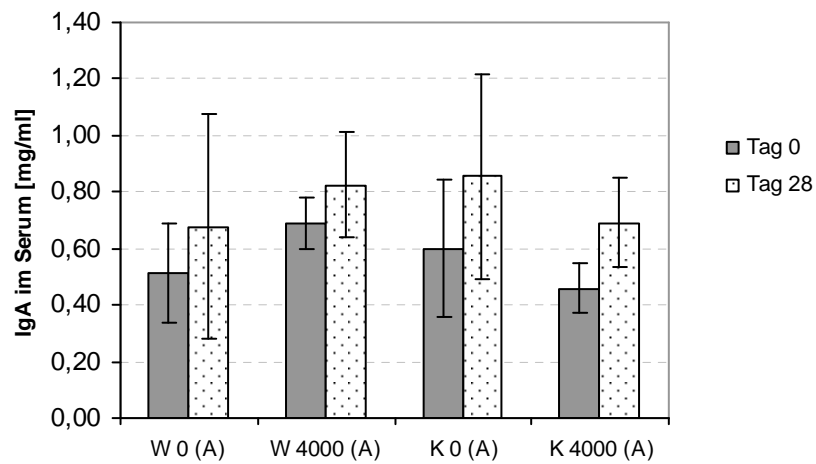
Parameter	Zeit	Ls-means [Dosis*Diät]						SEM	sig. Fakt $p \leq 0,05$
		W 0	W 4000	W 6000	Ka 0	Ka 4000	Ka 6000		
TP [g/dl]	0	5,5	5,5	5,7	5,3	5,0	5,6	0,14	Einfluß der Diät, des Versuchstags und WW Dosis*Diät
	14	5,9	6,0	5,9	5,5	5,3	5,6	0,19	
	28	6,1	5,9	5,8	6,2	5,7	6,0	0,16	
Albumin [%]	0	46,8	48,6	43,1	38,2	40,4	40,5	1,81	Einfluß der Diät, des Versuchstags und WW Dosis*Diät
	14	49,2	52,0	48,8	48,0	44,7	49,4	1,62	
	28	50,5	54,1	51,1	54,7	51,0	53,5	1,30	
a1-Globulin [%]	0	1,6	5,1	1,4	21,5	11,5	15,3	2,96	Einfluß der Diät, des Vtags, WW Vtag*Diät WW Vtag*Dosis*Diät
	14	0,8	0,7	0,8	1,0	1,9	4,0	1,15	
	28	0,9	0,7	0,5	14,8	13,0	9,7	1,48	
a2-Globulin [%]	0	21,1	19,4	23,7	20,1	10,5	11,2	6,58	Einfluß des Alters, der Diät, des Versuchstags
	14	17,9	16,1	17,2	18,3	17,4	13,1	7,67	
	28	16,2	13,8	15,1	5,8	7,7	8,2	1,11	
b1-Globulin [%]	0	7,0	8,1	6,5	13,4	36,9	12,8	10,51	Einfluß der Diät
	14	8,1	7,6	5,4	16,3	17,2	15,9	2,53	
	28	7,7	5,4	11,2	12,9	13,7	11,3	1,94	
g-Globulin [%]	0	25,1	20,3	27,2	19,3	22,0	19,9	2,56	Einfluß der Diät
	14	24,0	25,7	27,9	16,3	18,8	17,6	2,37	
	28	24,7	25,9	22,0	11,8	14,6	17,4	2,43	
Alb/Glob	0	0,9	0,9	0,8	0,6	0,7	0,7	0,06	Einfluß der Diät, WW Dosis*Diät
	14	1,0	1,1	1,0	0,9	0,8	1,0	0,06	
	28	1,0	1,2	1,0	1,2	1,0	1,2	0,06	

#### 5.4.1.1 Immunglobuline

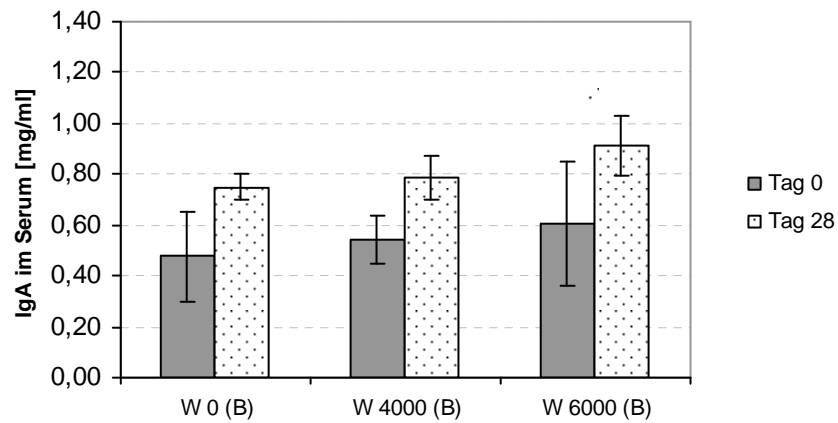
Die Ergebnisse der Immunglobulinanalyse aus der FAL Braunschweig zeigten eine generelle altersabhängige Zunahme der Serum-IgA-Spiegel in allen Gruppen (Abbildung 18, Abbildung 19, Abbildung 20). Ein signifikanter Einfluß der Toxindosis war nicht erkennbar.

In *Durchgang B* zeigten Tiere der hochbelasteten Gruppe tendenziell höhere IgA-Werte, als die der Kontrollgruppe. Die IgM-Gehalte zeigten dagegen, mit zunehmendem Alter, einen deutlichen Trend zu geringeren Konzentrationen. Signifikanzen der Mittelwerte zwischen der ersten (Tag 0) und letzten Blutentnahme (Tag 28) traten hier in der getreidefrei gefütterten Belastungsgruppe in *Durchgang A* sowie in der Kontroll- und mittleren Belastungsgruppe (4000 µg DON<sub>nat</sub>/kg Futter) in *Durchgang B* auf.

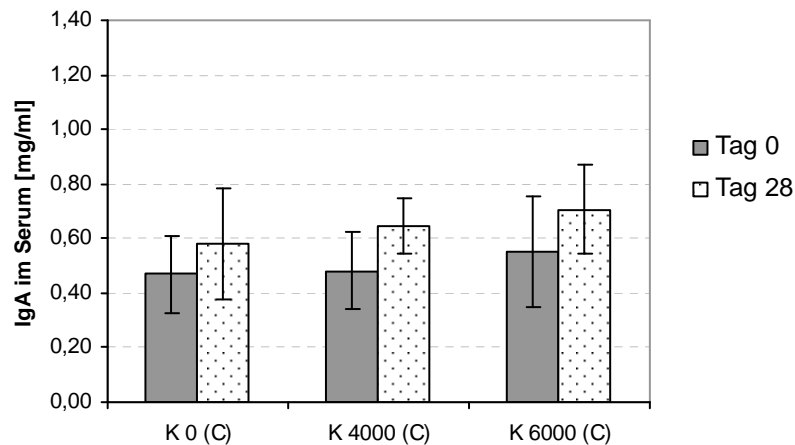
Unterschiede zwischen den Behandlungen waren jedoch nicht zu erkennen. Es ließ sich lediglich ein statistisch nicht absicherbarer Trend zu höheren IgA-Gehalten mit steigender DON-Konzentration feststellen, der bei Verabreichung von DON<sub>nat</sub> deutlich ausgeprägter erschien, als bei Verfütterung des reinen Toxins.



**Abbildung 18** Mittlere Serum IgA-Gehalte im *Durchgang A* gemessen zu Beginn und Ende des Versuchsabschnitts.



**Abbildung 19** Mittlere Serum IgA-Gehalte im *Durchgang B* gemessen zu Beginn und Ende des Versuchsabschnitts.



**Abbildung 20** Mittlere Serum IgA-Gehalte im *Durchgang C* gemessen zu Beginn und Ende des Versuchsabschnitts.

#### 5.4.2 Kot

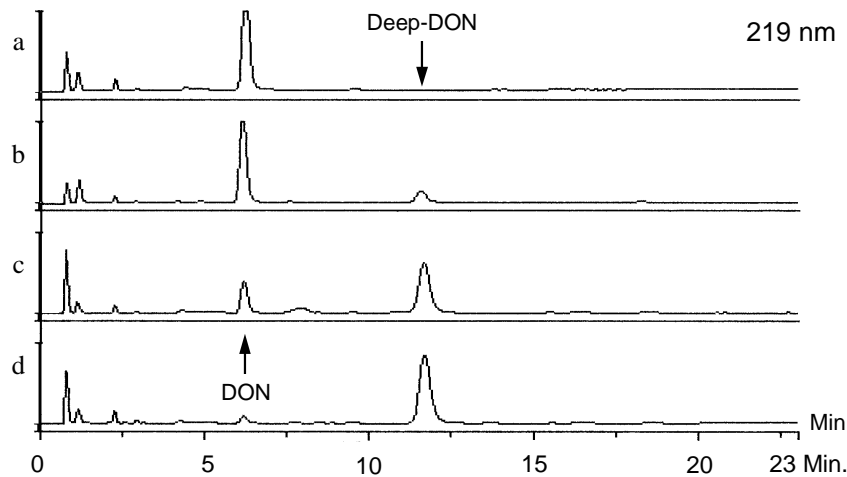
##### 5.4.2.1 DON-Exkretion

In den tiefgefrorenen Kotproben konnten lediglich vereinzelt Spuren von DON unterhalb der Bestimmungsgrenze nachgewiesen werden. DOM-1 war regelmäßig nicht nachweisbar. Auch in den "Negativproben" (ohne externen DON-Zusatz) der Transformationstudie war weder DON noch Deepoxy-DON nachweisbar.

##### 5.4.2.2 Metabolisierung

Die Isolierung von DON und ggf. gebildetem DOM-1 aus einer Kot-Puffer-Suspension (nach Modellsystem) gelang nahezu vollständig durch einfache Extraktion mittels Ethylacetat an Extrelut-Kartuschen (Wiederfindung 92-97 %). Die Extrakte konnten ohne weitere Aufreinigung direkt in das HPLC-System injiziert (Abbildung 21) bzw. zur GC/MS-Derivatisierung eingesetzt werden.

In den inaktivierten Proben der belasteten Tiere wurde regelmäßig deutlich mehr, bis zu 115% des zudotierten DON gefunden. Aus diesem Grund wurden die inaktivierten Proben, ohne Toxinzusatz, direkt mittels HPLC bzw. GC/MS untersucht. In keinem einzigen Fall konnten DON bzw. DOM-1 nachgewiesen werden.



**Abbildung 21** Transformation von Deoxynivalenol zu Deepoxy-Deoxynivalenol (DOM-1) durch Darmmikroorganismen aus dem Kot (Rektum) des Schweines. HPLC-Chromatogramme der Ethylacetat-Extrakte aus unterschiedlichen Kot-Puffer-Suspensionen (a: Mikroflora inaktiv; b - d: Mikroflora aktiv) nach 24 h Inkubation der jeweiligen Faeces mit reinem DON bei 37 °C.

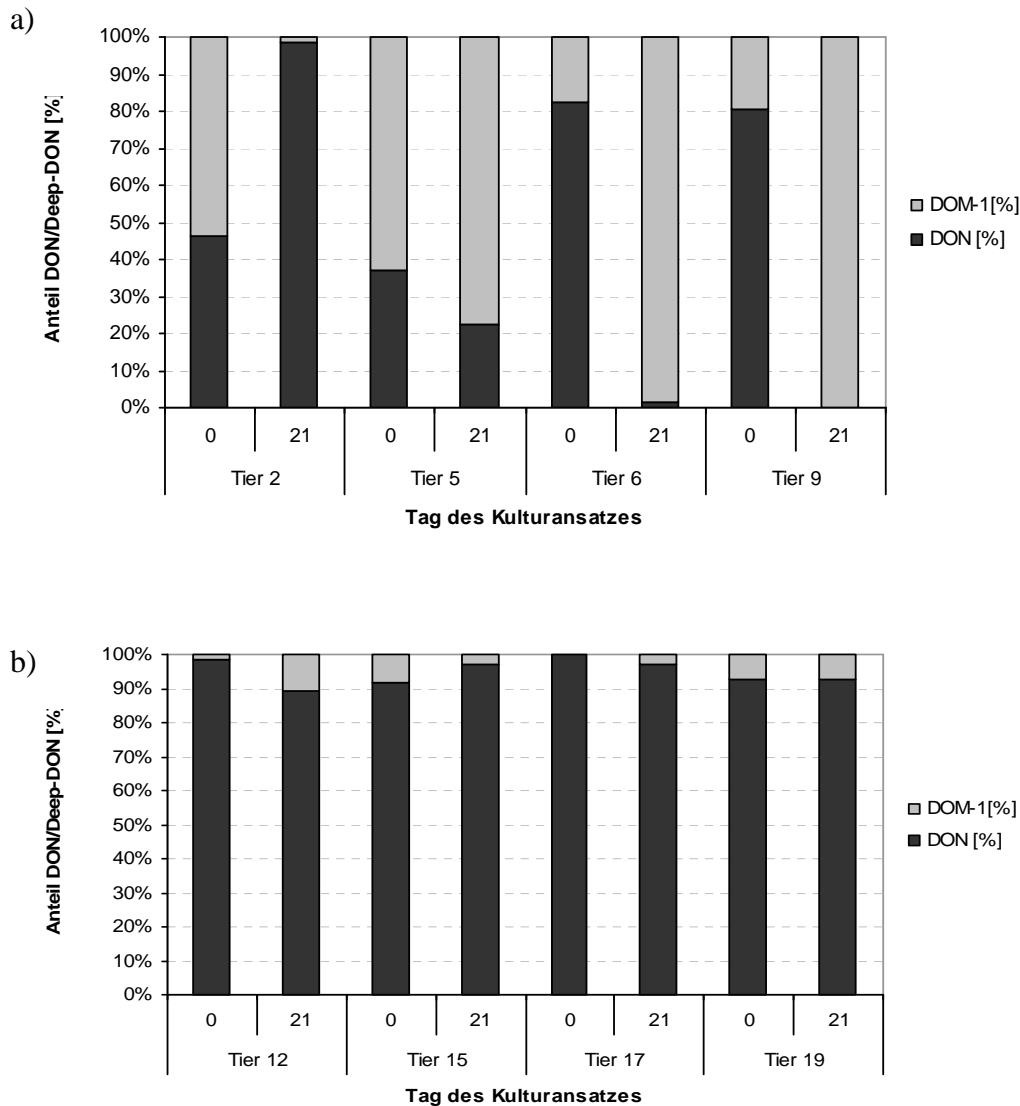
#### 5.4.2.3 Transformation von DON im Tierversuch

Die Fähigkeit der Darmmikroflora (aus dem Rektum) DON zu DOM-1 zu transformieren war sowohl von der Darreichungsform und der Toxinmenge als auch vom Fütterungsregime abhängig (Abbildung 22, Abbildung 23, Abbildung 24).

Unabhängig von der Toxinmenge waren die mit der getreidefreien Diät gefütterten Tiere am Tag 0 praktisch nicht in der Lage DON zu metabolisieren. Demgegenüber erlangten die mit unbelastetem Weizen gefütterten Tiere diese Fähigkeit bereits in der Anfütterungsphase. Der Anteil an DOM-1 nahm im Zuge des Versuchs stark ( $4000 \mu\text{g DON}_{\text{nat}}/\text{kg Futter}$ ) bzw. geringfügig ( $4000 \mu\text{g DON}_{\text{rein}}/\text{kg Futter}$ ) zu. Trotzdem zeigten nur die mit natürlich kontaminiertem Weizen belasteten Tiere eine deutlich geringere Futteraufnahme und deutliche Einbußen in der Gewichtsentwicklung.

Mit steigender Toxinkonzentration im Futter nahm der Anteil transformierender Mikroorganismen im Kot, unabhängig von der Darreichungsform, zu (Ausnahme Tier 13, *Durchgang C*, Abbildung 24), während bei den Kontrolltieren kein einheitliches Muster zu erkennen war, da die Metabolisierungsfähigkeit teilweise nahezu unverändert blieb, zu- oder gar abnahm.

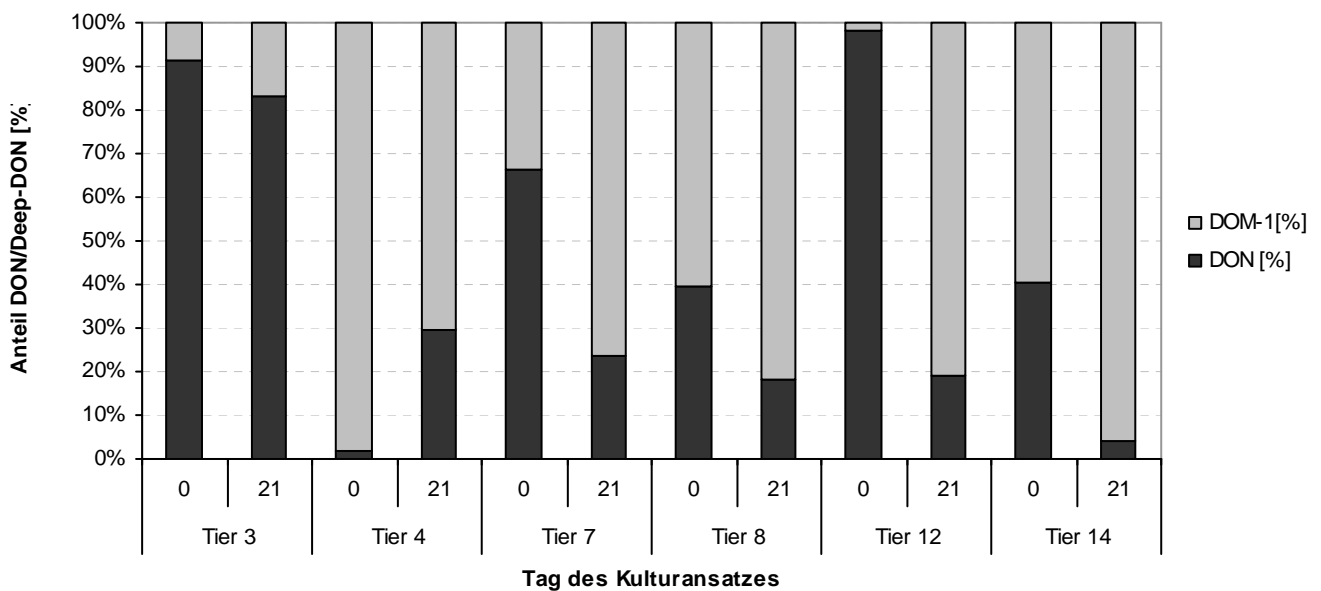
Eine Zunahme der Metabolisierung stellte sich bei Tieren, die eine belastete Weizenmischung erhielten deutlich ausgeprägter dar, als bei getreidefrei gefütterten Tieren (Abbildung 22 a + b, Abbildung 23, Abbildung 24). Bei ad libitum Fütterung (*Durchgang B, C*) erfolgte die Adaptation der Mikroflora im Gegensatz zur restriktiven Fütterung (*Durchgang A*) schneller, trat bei mehr Tieren auf und der Abbau des Toxins erfolgte bei diesen Tieren vollständig. Dies war auch bei den getreidefrei gefütterten Tieren zu beobachten.



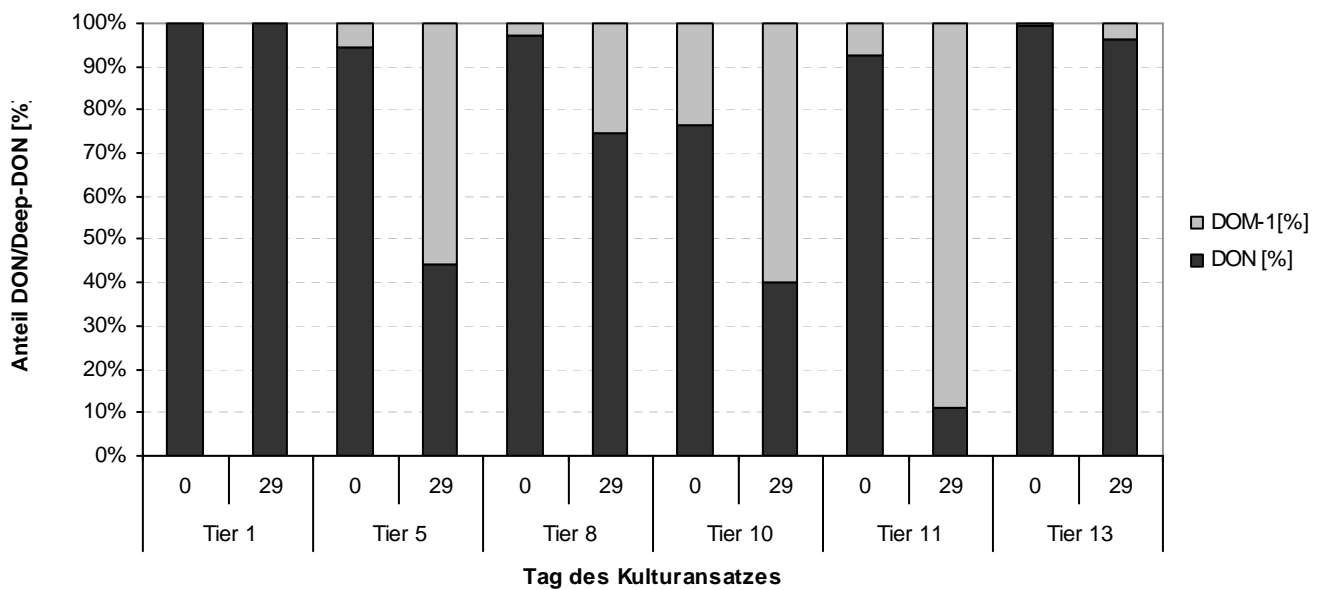
**Abbildung 22** Prozentuale Anteile von DON und DOM-1 nach Inkubation von Kot-Puffer-Suspension im ersten Versuchsabschnitt (*Durchgang A*, Versuchstage 0 u. 21). a) Tier 2/5: Weizen unbelastet; Tier 6/9: Weizen mit 4000 µg DON<sub>nat</sub>/kg Futter). b) Tier 12/15: Kartoffel unbelastet; Tier 17/19: Kart. mit 4000 µg DON<sub>rein</sub>/kg.

Im einzelnen ist jedoch ist anzumerken, dass im zweiten Versuchsabschnitt *Durchgang B* Tier 2 (Weizen unbelastet) mit hohen Metabolisierungsraten auffiel, obwohl es niemals belastetes Getreide erhalten hatte. Dagegen zeigte Tier 15 (Weizen mit 6000 µg DON<sub>nat</sub>/kg, ohne Abbildung) anfangs eine Deepoxidationsrate von 60 %, die trotz Toxineinwirkung im Versuchsverlauf insgesamt abnahm.

Auch im dritten Versuchsabschnitt war teilweise bereits von Beginn an eine hohe Metabolisierungsaktivität zu verzeichnen (Tier 2, getreidefrei unbelastet), die trotz eines fehlenden "Toxinreizes" über den Versuchszeitraum bestehen blieb. Andere wiederum zeigten trotz Toxinverabreichung keinerlei Deepoxidation (Tier 9, getreidefrei 4000 µg DON<sub>rein</sub>/kg, ohne Abbildung).



**Abbildung 23** Prozentuale Anteile von DON und DOM-1 nach Inkubation von Kot-Puffer-Suspension im zweiten Versuchsabschnitt (*Durchgang B*, Versuchstage 0 u. 21). Tier 3/4 Weizen unbelastet. Tier 7/8: Weizen mit 4000 µg DON<sub>nat</sub> /kg Futter; Tier 12/14: Weizen mit 6000 µg DON<sub>nat</sub> /kg Futter



**Abbildung 24** Prozentuale Anteile von DON und DOM-1 nach Inkubation von Kot-Puffer-Susp. im dritten Versuchsabschnitt (*Durchgang C*, Versuchstage 0 u. 29). Tier 1/5: Kart. unbelastet, Tier 8/10: Kartoffel mit 4000 µg DON<sub>nat</sub> /kg, Tier 11/13: Kart. 6000 µg DON<sub>rein</sub>/kg.

Abschließend kann nicht von einer natürlichen Kapazität zur Metabolisierung ausgegangen werden, sondern diese Fähigkeit scheint vielmehr abhängig zu sein von dem Vorhandensein, der Aufnahme und der Etablierung metabolisierender Mikroorganismen im Darm.

### 5.4.3 Organe

#### 5.4.3.1 Enzymatik

Die enzymatischen Untersuchungen nach Beendigung des ersten Versuchsabschnittes (*Durchgang A*) ergaben dosisabhängige Effekte auf den Proteingehalt der Darmmukosa sowie der ALT-Aktivität der Enterozyten (Abbildung 25, Abbildung 26).

Der Einfluß auf die  $\alpha$ -KGDH-Aktivität dagegen stellte sich nicht eindeutig dar. Diese Unterschiede ließen sich im zweiten Versuchsabschnitt (*Durchgang B*) nur in geringem Ausmaß wiederfinden, waren aber jeweils nicht signifikant gegenüber der Kontrolle (Abbildung 28). Im Gegensatz zum ersten Versuchsabschnitt zeigte sich hier allerdings eine Abnahme der  $\alpha$ -KGDH-Aktivität unabhängig von der Belastung. Eine Korrelation zur DON-Konzentration im Futter zwischen Kontrolle und Belastung war jedoch nicht statistisch absicherbar. In *Durchgang C* wurde aufgrund des fehlenden Toxineffektes in Bezug auf die Leistung auf diese aufwändigen weiterführenden Untersuchungen verzichtet.



**Tabelle 23** Proteingehalt sowie ALT und  $\alpha$ -KGDH-Aktivitäten in der Darmmukosa in Durchgang A.

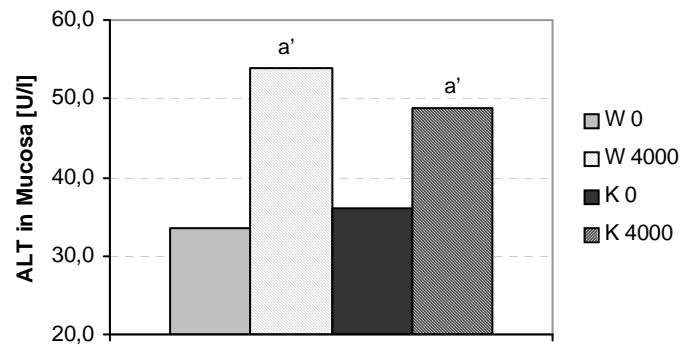
Parameter	Tag	Ls-means [Dosis*Diät]				SEM	sign. Fakt. $p \leq 0,05$
		W 0	W 4000	Ka 0	Ka 4000		
<b>TiP* [mg/dl]</b>	28	73,9	54,8	77,0	63,4	4,48	Einfluß d. Toxindos.
<b>ALT [U/l]</b>	28	33,4	53,8	36,2	48,8	5,22	Einfluß d. Toxindos.
<b>aKGDH [U/l]</b>	28	315,0	304,1	354,2	356,2	19,57	

\*TiP = tissue protein;

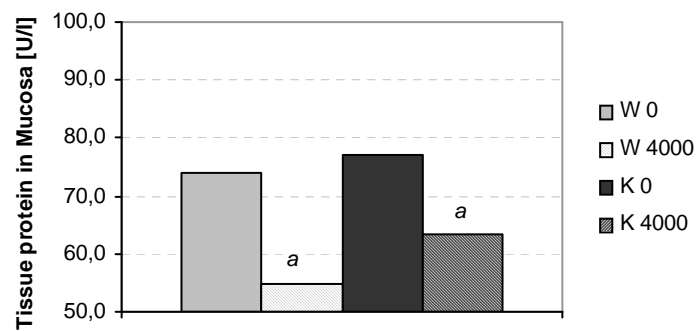
**Tabelle 24** Proteingehalt sowie ALT und  $\alpha$ -KGDH-Aktivitäten in der Darmmucosa in Durchgang B.

Parameter	Tag	Ls-means [Dosis*Diät]			SEM	sign. Fakt. $p \leq 0,05$
		W 0	W 4000	W 6000		
<b>TiP* [mg/dl]</b>	28	80,5	82,8	69,9	4,27	Einfluß d. Toxindos.
<b>ALT [U/l]</b>	28	38,5	35,9	30,7	3,72	
<b>aKGDH [U/l]</b>	28	419,9	372,5	376,9	32,12	

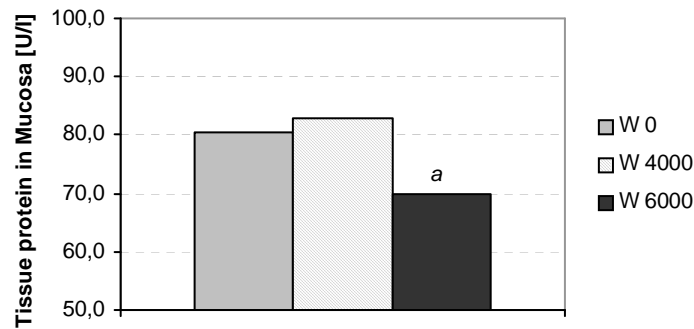
\*TiP = tissue protein;



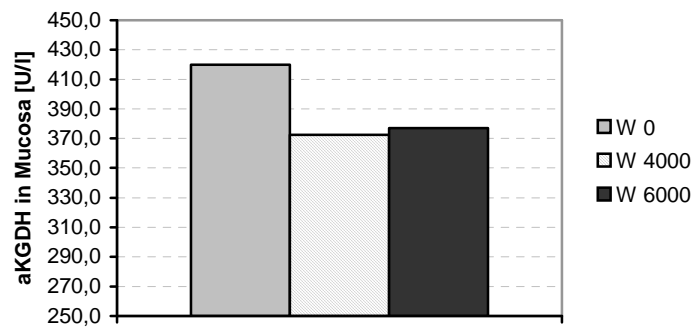
**Abbildung 25** ALT-Aktivität in der Darmmukosa in *Durchgang A*. a' = Trend ( $p = 0,1168$ ) gegenüber der jeweiligen Kontrolle



**Abbildung 26** Proteingehalt in der Darmmukosa in *Durchgang A*. a = signifikanter Unterschied zur jeweiligen Kontrolle



**Abbildung 27** Proteingehalt in der Darmmucosa in *Durchgang B*. a = signifikanter Unterschied zur mittleren Belastungsgruppe



**Abbildung 28** α-KGDH-Aktivität in der Darmmucosa in *Durchgang B*.

#### 5.4.3.2 Histologie

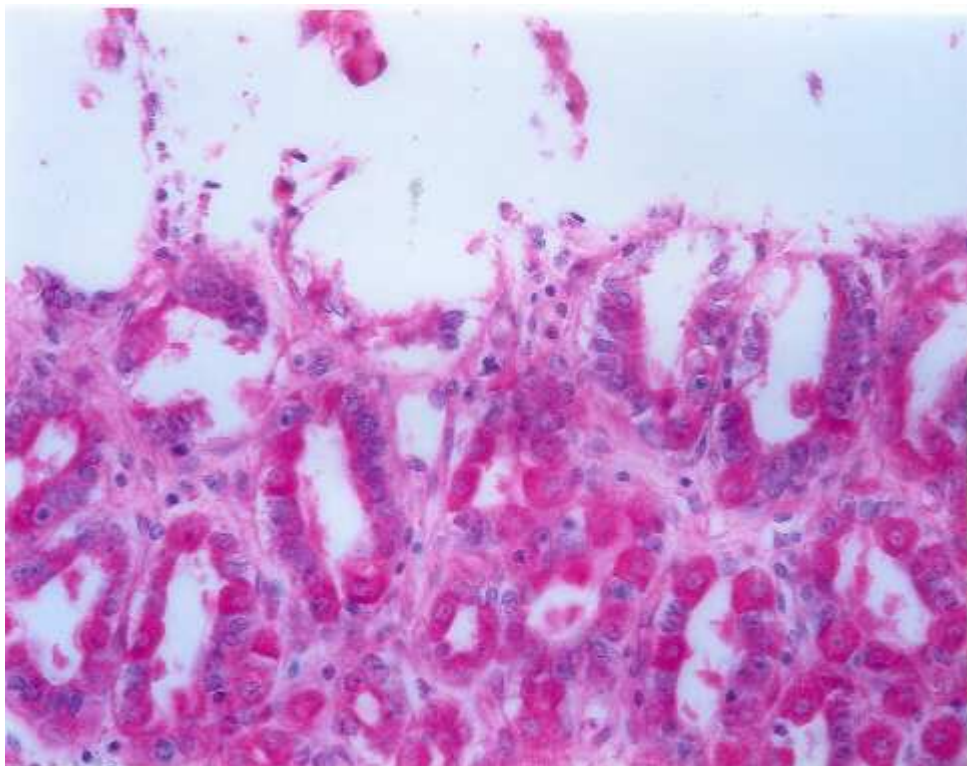
Bei der in *Durchgang B* durchgeführten histologischen Untersuchung ausgewählter Tiere (je 2 Tiere aus DON<sub>nat</sub> 0 bzw. DON<sub>nat</sub> 6000) wurden Veränderungen im Fundusteil des Magens und teilweise auch der Darmschleimhaut gefunden. Die Veränderungen stellten sich im Magen als fokal auftretende Ablösung des Epithels bis hin zu Abrasionen dar (Abbildung 29, Abbildung 30).

Im Dünndarm wurden ebenfalls fokal auftretende Ablösungen der Mukosa, mit Bildung sogenannter Grünhagenscher Räume, beobachtet. Die Tela submukosa erschien in diesem Abschnitt stark ödematös verdickt. Die beschriebenen Veränderungen traten jedoch unregelmäßig und unabhängig von der Toxinkonzentration auf (Abbildung 31).

In *Durchgang C* wurde aufgrund des fehlenden Toxineffektes in Bezug auf die Leistung auf diese aufwändige weiterführenden Untersuchungen verzichtet.



**Abbildung 29** Magenfundus Tier 3 *Durchgang B* (Weizen Kontrolle). Färbung HE



**Abbildung 30** Magenfundus Tier 13 *Durchgang B* (Weizen 6000 µg DON<sub>nat</sub>/kg Futter). Abrasion des Epithels. Färbung HE



**Abbildung 31** Duodenum Tier 13 *Durchgang B* (Weizen 6000  $\mu\text{g}$   $\text{DON}_{\text{nat}}$ /kg Futter). Ablösung des Zottenepithels mit Entstehung sog. Grünhagenscher Räume (Pfeil). Färbung HE

## 6 DISKUSSION

### 6.1 Toxin

#### 6.1.1 Gewinnung von reinem Deoxynivalenol

Das in der ersten Periode des Gesamtprojektes (Teilprojekt A, GÖTZ; 2003) zur DON-Isolierung verwendete Isolat von *Fusarium graminearum* 4258 (aus der Stammsammlung des Instituts für Pflanzenzüchtung der Universität Hohenheim) produzierte bei der erneuten Anzucht in Reiskultur (Zwischenlagerung auf 2% Malzextrakt) leider nur noch geringe Mengen an 3-Acetyl-Deoxynivalenol (ca. 1 g 3-ADON/kg Reis). Aus diesem Grund wurde das Isolat DSMZ 4258 aus einer 1995 angelegten Erdkultur neu angezogen und überprüft.

Die gebildete Toxinmenge lag mit 2,5-3,5 g 3-ADON/kg Reis (HPLC-Bestimmung nach Extrelut-Extraktion eines Rohextrakt-Aliquotes) geringfügig unter den in der ersten Periode beobachteten Ausbeuten. Mit fortschreitender Inkubationsdauer (>10 Tage) wurde das gebildete 3-ADON verstärkt zu Deoxynivalenol (DON) umgewandelt und auch der Anteil störender weiterer Komponenten stieg überproportional an. Aus diesem Grund wurde die Inkubationszeit (Reis-Kultur) entgegen den Erfahrungen aus der ersten Periode (Teilprojekt A, GÖTZ, 2003) von 14-15 Tagen auf 9-10 Tage begrenzt.

Über einen längeren Zeitraum auf Malzextraktagar gelagerte bzw. häufig überimpfte Kulturen von *Fusarium graminearum* "verlieren" ihre Fähigkeit große Mengen an 3-ADON zu bilden. Demgegenüber scheinen sich Kulturen, die auf nährstoffarmen Medien (z. B. Erdkulturen) überdauert wurden, diese Eigenschaft zu erhalten. Vor dem Ansatz größerer Chargen (Reiskulturen) muß das Toxinbildungsvermögen des verwendeten Isolates daher in regelmäßigen Abständen überprüft werden.

Eine erste Aufreinigung des Rohextraktes erfolgte durch flüssig-flüssig-Extraktion mit Ethylacetat in Scheidetrichtern. In Abhängigkeit des verwendeten Isolates und der Inkubationsdauer entstehen hierbei mehr oder weniger starke Emulsionen.

Die gegenüber einer Extrelut-Extraktion um bis zu 35% niedrigere Ausbeute mußte aufgrund des hohen Materialpreises und der großen benötigten Menge an Extrelut in Kauf genommen werden. Aufgrund der Wiederverwendung des regenerierten Ionentauschermaterials konnten die Verluste bei der Hydrolyse des 3-ADON zu DON auf unter 10 % gesenkt werden (ALTPETER et POSSELT; 1994, LAUBER et al.; 1997).

## 6.2 Futter

### 6.2.1 Futterzusammensetzung

In einer dieser Untersuchungen vorausgegangenen Arbeit wurde bereits eine halbsynthetische Diät mit Zusatz von reinem DON verabreicht (GÖTZ; 2003). In dieser Studie sollte erstmals ein getreidefreies - und damit praktisch toxinfreies - mit einem natürlich kontaminierten Futter verglichen werden, um aus dem Versuch erhaltene Daten in die bestehende Literatur einbetten zu können. Hierdurch sollten aussagekräftige Daten über ausschließlich DON zuzuordnende leistungsmindernde Effekte erhalten werden.

Im Gegensatz zu den Erhebungen bei Getreide wurden bei Kartoffeln, welche mit dem Erreger der Trockenfäule (*F. sambucinum*) infiziert waren, bislang ausschließlich Kontaminationen mit Diacetoxyscirpenol (DAS) gefunden. Andere Trichothecene der Gruppe B konnten hier bislang nicht nachgewiesen werden (ELLNER; 2002, SCHULTZ et al.; 2007).

Zur besseren Vergleichbarkeit der Futtermischungen wurde deren Zusammensetzung so konzipiert, daß lediglich der Weizen in der getreidefreien Futtervariante durch entsprechende Kartoffelanteile ersetzt wurde, ohne dass gravierende Unterschiede in den prozentualen Anteilen der übrigen Futterkomponenten in Kauf genommen werden mussten. Geringe Differenzen in den Nährstoffgehalten wurden toleriert.

### 6.2.2 Weender Futtermittel-Analyse

Tatsächlich entsprachen sich die Rohnährstoffgehalte in den beiden Futtervarianten (Weizen, getreidefrei) nicht exakt sondern wiesen v.a. im Proteingehalt, Rohfett- und Stärkeanteil Unterschiede auf (Tabelle 9). Diese Abweichungen waren jedoch gering und für das angestrebte Untersuchungsziel unter den dargelegten Bedingungen (es wurde jeweils eine zugehörige Kontrollgruppe mitgeführt) sowie bei Betrachtung der Gesamtentwicklung der Tiere zu vernachlässigen.

Der geringgradig höhere Gehalt an Fett (XL, HCl-Fett) und Stärke in der getreidefreien Mischung hat sich nachweislich nicht bedeutend in der Gewichtsentwicklung niedergeschlagen. Lediglich bei restriktiver Futterverabreichung (*Durchgang A*) zeigten die „Kartoffeltiere“ eine etwas bessere Entwicklung in Bezug auf Endgewicht und tägliche Zunahme, was jedoch statistisch nicht belegt werden konnte.

Dieser diätetisch bedingte Unterschied wird erst bei ad libitum-Fütterung signifikant, was einerseits den direkten Vergleich der Futtervarianten und andererseits den Vergleich natürlicher Kontamination mit labortechnisch reinem Toxinzusatz erschwert. Die Untersuchung mußte sich daher auf die Erstellung einer Dosis-Wirkungsbeziehung von DON auf Leistungsparameter (LM, LMZ, FA) innerhalb einer Futtervariante beschränken.

Zur Verifizierung, welche Einbußen eindeutig auf DON zurückgeführt werden können, wurde eine getreidefreie Futtermischung entwickelt, die sich - sollte der Bezug zur Praxis erhalten bleiben - nicht zu sehr von einer normalen Ration unterscheiden durfte. Ein derartiges Konzept ist in der Literatur bislang nur einmal beschrieben, wobei hier ausschließlich eine synthetische Ration verabreicht (GÖTZ; 2003) wurde. Um die ermittelten Daten jedoch in bisherige Erkenntnisse einbetten zu können, mußte eine natürliche Vergleichsmischung (unbelastet/kontaminiert) gegenübergestellt werden.

Die beobachteten, grundsätzlich unterschiedlichen Effekte von DON aus natürlich kontaminiertem Material und dem reinen Toxin lassen sich durch die hier auftretenden Abweichungen in den Rohnährstoffgehalten der Ausgangsmischungen nicht erklären.

#### 6.2.2.1 Aminosäuren

Die Proteinversorgung der Tiere kann bei den hier verwendeten Futtermischungen als reichlich angesehen werden. Auch die von der DLG geforderten Aminosäuregehalte/-verhältnisse waren in beiden Futtervarianten erfüllt (Tabelle 27).

Der Lysingehalt war in der getreidefreien Futtermischung durch den Eintrag über die Kartoffel deutlich höher als in der Weizenmischung. Gleiches gilt auch in weit geringerem Ausmaß für den Gehalt an Methionin und Cystin (Tabelle 14). Hiermit läßt sich aber nicht die bessere Gewichtsentwicklung der getreidefrei gefütterten Tiere in *Durchgang A* erklären, da der Optimalbedarf bei beiden Varianten abgedeckt wurde. Dennoch zeigte sich in der Auswertung hier ein gewisser Einfluß der Diät.

Die Unterschiede in der Gewichtsentwicklung erschwerten zwar den Vergleich der beiden Diätgruppen, aber durch das Mitführen einer Kontrolle in jeder Diätvariante war der ursprüngliche Versuchsansatz, natürlich im Getreide gebildetes DON mit dem künstlich synthetisierten, reinen Toxin vergleichen zu können, noch immer gegeben.

#### 6.2.2.2 Vitamine

Eine bedarfsgerechte Versorgung mit allen Vitaminen (auch Vitamin B1, B6 und B12) war durch die Einträge über die Rationskomponenten, insbesonde von Molke- und Magermilchpulver gewährleistet.

#### 6.2.2.3 Mineralstoffe und Spurenelemente

Mit 14,8 bzw. 6,5 g lagen die Gehalte an Kalzium bzw. Phosphor (Tabelle 12) über bzw. unter den empfohlenen Mengen für Schweine. Ein gewisser Kalziumüberschuß wird jedoch in diesem Zusammenhang ohne Nachteile kompensiert. Auch der kurze Versuchszeitraum relativierte diese Abweichung.



Das nicht den Empfehlungen der DLG entsprechende Verhältnis der beiden Mineralstoffe in der Futtermischung (1,1 bis 1,4:1) wurde aufgrund der kurzen Versuchszeit und zugunsten des neuartigen Versuchskonzeptes in Kauf genommen. Die ausreichende Aufnahme der täglich erforderlichen Menge<sup>13</sup> beider Mineralstoffe war trotzdem gewährleistet, wie sich aus den täglich aufgenommenen Futtermengen ableiten läßt. Daneben ließ sich trotz der diesbezüglich nicht optimal gestalteten Ration kein negativer Einfluß erkennen.

Eine Beeinträchtigung der Schmackhaftigkeit durch den hohen Calciumcarbonat-Gehalt im Futter war nicht festzustellen, ebenso ließ sich keine negative Korrelation zwischen den täglichen Zunahmen und einem zu weiten Ca/P-Verhältnis ermitteln. Die Tiere zeigten während der gesamten Versuchszeit keine Krankheitserscheinungen, insbesondere hinsichtlich eines erhöhten Kolienterotoxämie-Risikos aufgrund eines erhöhten Calciumcarbonat-Angebotes im Futter (PLONAIT et BICKHARDT; 1997).

Anhand der erfaßten Daten zu Futteraufnahmen und Tageszunahmen läßt sich ein negativer Einfluß durch das kurzfristige Calciumüberangebot ausschließen. Die Entwicklung der Tiere war als gut bis sehr gut zu bezeichnen und entsprach den Forderungen in einem herkömmlichen Mastbetrieb. Desweiteren unterlagen alle Tiere den selben Fütterungsbedingungen, sodaß die Verschleierung einer evt. Toxinwirkung durch Fütterungseffekte ausgeschlossen werden konnte.

#### 6.2.2.4 Futterkonsistenz

Aufgrund der Verwendung von Kartoffel-Instantpulver in der getreidefreien Diätvariante war die Möglichkeit der Pelletierung und damit auch eine Vereinfachung der Futtermittelverabreichung nicht gegeben. Darüber hinaus ist bei der Pelletierung durch die einwirkende Hitze während des Herstellungsprozesses immer mit nicht vorhersagbaren Toxinverlusten im fertigen Futter zu rechnen. Hinzu kommt, dass die eingesetzte Reinsubstanz Deoxynivalenol einerseits extrem teuer in der Anschaffung, andererseits sehr aufwändig in der Herstellung ist. Ein unkalkulierbarer Toxinverlust in der Futtermittelherstellung war somit nicht vertretbar.

Erwähnt sei unter diesem Gesichtspunkt auch eine potentielle Gefährdung der Versuchstechniker aufgrund der unvermeidlichen Staubentwicklung sowohl bei der Herstellung der Futtermischungen als auch bei jeder Fütterung an sich. Die hier eingesetzte Flüssigfütterung erlaubte eine genaue Zudosierung der Toxinmengen aus der Stammlösung, gewährleistete eine zügige Futteraufnahme und eine Minimierung der Staubentwicklung (Verhinderung der Staubverluste).

Die gewählte Fütterungstechnik erfüllte die Anforderungen der Studie und entsprach darüber hinaus auch den Entwicklungen in der damaligen Schweinehaltung.

---

<sup>13</sup> die erforderliche Tagesmenge beträgt ca. 8 g bei Tieren mit 15 kg KM bzw. ca.12 g bei Tieren mit 25 kg KM (JEROCH et al.; 1999)

### 6.2.3 Toxingehalte der Futterhauptbestandteile und der Endmischungen

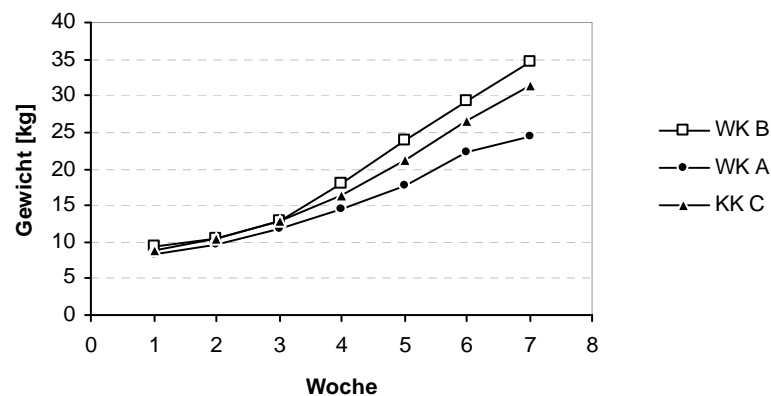
Der hohe Toxingehalt des schwach inokulierten Weizens lässt sich daraus erklären, dass für den Anbau dieser Weizencharge lediglich ein Standort mit Vorfrucht Mais zur Verfügung stand. Selbst im unbelasteten Weizenschlag waren geringe Mengen DON enthalten (Tabelle 13). Allerdings ist die vollständige Vermeidung eines Fusarienbefalls in der Natur nahezu unmöglich.

Die Infektion der Pflanze findet meist zum Zeitpunkt der Blüte statt, insbesondere bei feuchtwarmer Witterung. Aber auch eine Infektion vom Boden aus, über Chlamydosporen, ist möglich. Da es sich sowohl um teil- als auch vollsystemische Halminfektionen handelt, kann man von einem standorttreuen Auslöser für Fruchtfolgekrankheiten sprechen. Dieser Umstand erklärt auch den oftmals unwirksamen Einsatz von zur Blütezeit ausgebrachten Fungiziden (LUHMANN; 2006, SCHLÜTER et al.; 2006). Damit ist auch eine Kontamination mit den gebildeten Toxinen unumgänglich, was letztlich auch das Interesse an einer Kombinationswirkung dieser Substanzen mitbegründet. Insbesondere Co-Kontaminationen von DON und ZEA sind in der Regel in Weizen aber auch in Mais zu finden (EFSA; 2004a & b).

Wie gezeigt werden konnte, liegen häufig die Gehalte an DON und ZEA im Weizen oder daraus hergestellten Produkten (Mehl, Brot, Nudeln) über den erlaubten Grenzwerten für diese Substanzen, wobei Getreide und getreidhaltige Nahrungsmittel aus ökologischem Anbau (außer Nudeln) häufig geringere Gehalte aufweisen als jene aus konventioneller Landwirtschaft (SCHOLLENBERGER et al.; 2002, SCHOLLENBERGER et al.; 2003).

Die im geplant unbelasteten Getreide nachweisbaren Toxine T-2 und HT-2, zeichnen sich vor allem durch die zehnfach höhere Toxizität aus (PLACINTA et al.; 1999, SCF; 2002). Die ermittelten Gehalte an T-2 Toxin im nicht inokulierten Getreide entsprachen in etwa der Toxizität von 500 µg DON/kg. Den unbelasteten Weizen erhielten in erster Linie die Kontrolltiere. Aber es konnten weder bei restriktiver noch bei ad libitum-Fütterung Beeinträchtigungen der Tiergesundheit oder der Gewichtsentwicklung durch diese Kontamination festgestellt werden.

Weiteren Untersuchungen zufolge zeichnet sich auch T2-Toxin durch eine Verminderung der Futteraufnahme bis hin zur Futterverweigerung aus, woraus sich vermindertes Wachstum, auch bedingt durch einen erniedrigten Blutglukosespiegel, ableiten lässt. Ferner wurden Entzündungen (Dermatitis) an Nasenrücken, Rüsselscheibe und an der Lippenkommissur festgestellt (FRIEND et al.; 1992, RAFAI et al.; 1995). Die bei den ad libitum gefütterten Gruppen in *Durchgang B* aufgetretenen Leistungsunterschiede lassen aber eine deutliche Abhängigkeit von der DON-Konzentration erkennen (Abbildung 6).



**Abbildung 32** Gewichtsentwicklung der Kontrollgruppen der *Durchgänge A, B und C*. Versuchsbeginn (Tag 0) ist zu Beginn von Woche 3. WK A = Kontrollgruppe Weizen in *Durchgang A*, WK B = Kontrollgruppe Weizen in *Durchgang B*, KK C = Kontrollgruppe Kartoffel in *Durchgang C*

Wie auch DÄNICKE et al. (2005 & 2008) in zwei Fütterungsversuchen an Ferkeln zeigen konnten, haben so geringe Kontaminationen des eigentlich als unbelastetes Getreide eingesetzten Materials keine Auswirkung auf die Entwicklung und Gesundheit der Tiere. In den Untersuchungen zur Detoxifizierung eines kontaminierten Futters mittels Natriummetabisulfit war lediglich ein Unterschied in der Gewichtsentwicklung zwischen belasteten und unbelasteten Tieren zu erkennen.

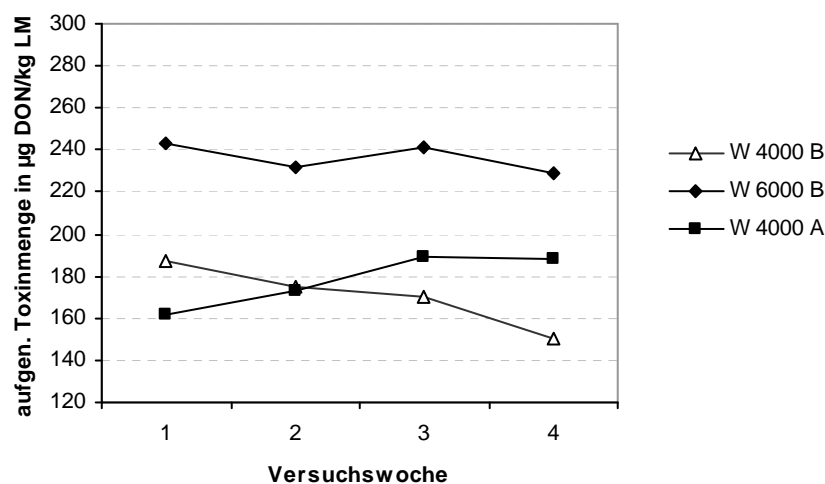
Vergleicht man die Kontrollgruppen aus *Durchgang B* und *C* (Abbildung 32), so lässt sich eine geringgradig höhere Leistung der getreidehaltig gefütterten Tiere erkennen. Dieser Sachverhalt zeigt auf, dass die Kontamination mit T2- und HT2- Toxin tatsächlich vernachlässigbar war, auch wenn eine eventuelle Beeinträchtigung der Futteraufnahme durch diese beiden Stoffe in den Weizen-Kontrollgruppen nur durch das Mitführen einer paired-Gruppe sicher auszuschließen gewesen wäre.

Die Kontrolltiere aus *Durchgang B* zeigten nicht nur gegenüber den beiden Toxingruppen eine deutlich höhere Leistung, sondern auch gegenüber den Kontrolltieren aus *Durchgang A*. Die Wachstumskurven beweisen, dass im ersten Abschnitt das Fütterungsregime für die nahezu gleichlaufende Entwicklung der restriktiv gefütterten Tiere verantwortlich war und nicht die Kontamination des eigentlich unbelasteten bzw. belasteten Getreides (Abbildung 34).

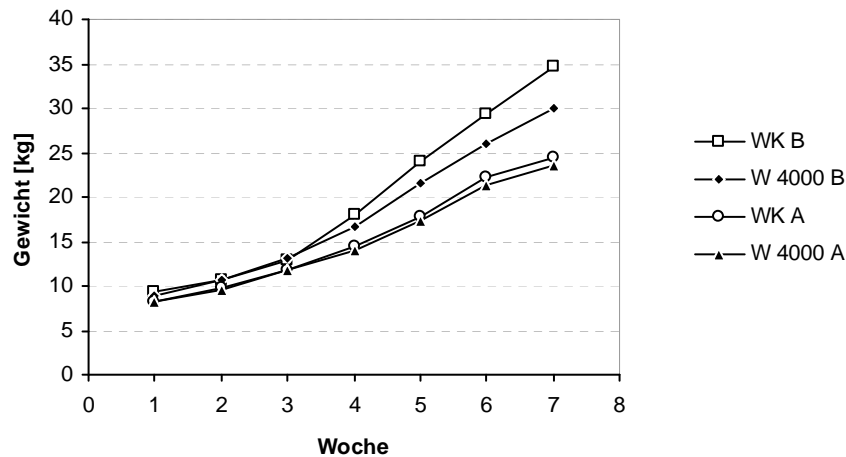
Die verwendete Formel zur Rationsberechnung orientierte sich strikt an einem restriktiven Fütterungsregime, da aufgrund des teuren Toxineinsatzes möglichst kein DON durch Vorlage zu großer Futtermengen verschwendet werden sollte. Die Erhöhung der Futtermenge pro kg Lebendmasse in der Berechnungsformel aus Kapitel 4.2.4 war somit nicht ausreichend, um einer ad libitum Fütterung zu entsprechen.

Den Einfluß des Fütterungsregimes belegten auch GOYARTS et DÄNICKE (2005) in einer Untersuchung mit parallel geführter restriktiver und ad libitum-Fütterung. Die Leistungseinbußen waren ebenfalls unter ad libitum-Fütterung deutlich größer, als bei restriktiver Fütterung. Dies war mit ein Grund dafür, das vorgesehene Versuchskonzept dahingehend zu ändern, dass das Fütterungsregime tatsächlich einer ad libitum-Fütterung entsprach.

Die im zweiten Versuchsabschnitt (*Durchgang B*) aufgetretenen Effekte zeigen, dass nicht ausschließlich die Konzentration von DON in der Futtermation Einfluß auf die Gewichtsentwicklung der Tiere zu nehmen scheint, sondern eventuell auch die absolut aufgenommene Toxinmenge von Bedeutung sein könnte. Wie aber aus Abbildung 33 zu ersehen ist, läßt sich dieser Unterschied aus den beiden Versuchsabschnitten nicht durch eine Abweichung in der aufgenommenen Toxinmenge erklären. Bezogen auf die Lebendmasse war bei Restriktivfütterung in *Durchgang A* die aufgenommene Toxinmenge annähernd gleich wie bei ad libitum-Fütterung in *Durchgang B*.



**Abbildung 33** Aufgenommene Toxinmenge pro kg LM der jeweiligen DON-Gruppen in *Durchgang A* und *B*. W 4000 A = Weizentoxin 4000 µg DON/kg Futter *Durchgang A*, W 4000 B = Weizentoxin 4000 µg DON/kg Futter *Durchgang B*, W 6000 B = Weizentoxin 6000 µg DON/kg Futter *Durchgang B*



**Abbildung 34** Vergleich der Kontroll- und Toxingruppe der *Durchgänge A und B*. Versuchsbeginn (Tag 0) ist zu Beginn von Woche 3. WK A = Kontrollgruppe Weizen in *Durchgang A*, WK B = Kontrollgruppe Weizen in *Durchgang B*, W 4000 A = Weizentoxin 4000 µgDON/kg Futter *Durchgang A*, W 4000 B = Weizentoxin 4000 µgDON/kg Futter *Durchgang B*

Die Herstellung eines natürlich kontaminierten Futters erfolgte in den bislang durchgeführten Studien in der Regel durch Beimischung geringster Mengen hochbelasteten Materials in die Getreideration (ROTTER et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b). Demgegenüber wurde in der vorliegenden Untersuchung die natürlich kontaminierte Getreidemischung nahezu vollständig (je nach Toxinstufe bis zu 100 % des Getreideanteils in der Endration) aus inokuliertem Weizen hergestellt. Hierdurch war eine gleichmäßig über das gesamte Futter verteilte natürliche Kontamination sichergestellt.

#### 6.2.4 Fusarinsäure

Über mögliche Interaktionen von Toxinen bei Co-Kontamination ist noch recht wenig bekannt. Denkbar wäre die unterstützende Wirkung einer zusätzlichen - möglicherweise noch unbekannten - toxischen Substanz oder aber eines an und für sich untoxischen, jedoch die DON-Wirkung potenzierenden Metabolits im natürlich kontaminierten Material.

Das Ausgangsmaterial und/oder die Endmischungen wurden in den vorangegangenen Untersuchungen zwar regelmäßig auf eine Auswahl wichtiger Mykotoxine untersucht, allerdings ist auch dies keine Gewähr für absolute Toxinfreiheit. So kann beispielsweise die Anwesenheit weiterer bekannter oder auch unbekannter Mykotoxine, welche nicht routinemäßig erfasst werden, nicht ausgeschlossen werden (ABBAS et al.; 1989). Auch der nachweisliche Einfluß der DON-Quelle (Mais oder Getreide) auf die Wirksamkeit des Toxins ließe sich durch eine Beteiligung weiterer Stoffe erklären.

Erste konkrete Hinweise auf eventuelle Synergiemechanismen konnten in Untersuchungen zur Wirkung von DON in Verbindung mit Fusarinsäure beim Schwein gesichert werden (SMITH et al.; 1997). In Anlehnung an diese Arbeit, welche eine eindeutige Korrelation zwischen dem Toxizitätsgrad eines Futters und einer eventuell mehrfachen Belastung mit verschiedenen Mykotoxinen (insbes. Fusarinsäure/DON) aufzeigte, sollte in der vorliegenden Arbeit auch geklärt werden, inwieweit die unterschiedliche Wirkung von DON eventuell in Abhängigkeit seiner Herkunft durch eine mögliche Co-Kontamination mit Fusarinsäure zu erklären ist.

Die Möglichkeit einer Wirkungssteigerung durch das gemeinsame Auftreten beider Toxine wird durch die Beeinflussung des zentralen Serotonin-Gehaltes deutlich. Ausgangsstoff für die Bildung von Serotonin ist Tryptophan, eine essentielle Aminosäure, deren Verfügbarkeit letztlich die Geschwindigkeit der zentralen Serotoninsynthese bestimmt. Bei erhöhtem Tryptophanangebot - z. B. aus der Nahrung - steigt demzufolge die Serotonin-Syntheserate an (FORTH et al.; 1992). Die von *Fusarium*-Pilzen aus Tryptophan gebildete Fusarinsäure konkurriert mit Tryptophan um dessen Bindungsstellen an Serumalbumin, wodurch es zu einem Anstieg der freien Aminosäure im Blut kommt.

Für Trichothecene wird ein ähnlicher Effekt vermutet. Man nimmt an, dass die toxinbedingte Proteinbiosynthese-Hemmung in der Leber zu einer Anflutung freier Aminosäuren im Blut führt, welche in einer erhöhten Aufnahme von Tryptophan in die ZSF resultiert. Sowohl T2-Toxin als auch DON führten nach oraler Verabreichung nachweislich zu einem Anstieg des neuronalen Serotonin-Gehaltes (SMITH et al.; 2000). Somit scheinen beide Substanzen, sowohl Fusarinsäure als auch DON, sich unter anderem durch Auslösung einer trichothecenbedingten Hyperaminoacidämie auszuzeichnen. Diese geht wiederum mit einem Anstieg der Tryptophanverfügbarkeit und folglich einer erhöhten serotoninergen Aktivität einher (SMITH; 1992, PRELUSKY; 1993, PRELUSKY; 1994a).

Die zentralen Effekte zeigten sich am deutlichsten im Mittelhirn (Metencephalon) in der Region der Brücke (Pons). Hier waren die Tryptophangehalte nach der Verfütterung von kontaminiertem Material erniedrigt, die Serotoningehalte dagegen erhöht. Ebenfalls signifikant erhöht war der Metabolit 5-HIAA, ein Indikator für serotoninerge Aktivität (SMITH et al.; 2000).

Allerdings konnte PRELUSKY bereits 1994 zeigen, dass selbst hohe Dosen an DON nach i.v./i.g.-Verabreichung nicht zu einer Erhöhung von 5-HT, 5-HIAA oder Tryptophan im Blut führten. Obwohl DON-bedingte klinische Symptome wie Anorexie und Erbrechen offensichtlich zu Tage traten, waren die Plasmagehalte an Serotonin, seinem Metaboliten und seiner Vorstufe nicht erhöht und eine Hyperaminoacidämie konnte somit nicht belegt werden (PRELUSKY; 1994).

Ein Synergieeffekt beider Substanzen im Sinne des Türöffner-Prinzips bleibt dennoch nicht ausgeschlossen. Es ist durchaus denkbar, dass der toxische Effekt von DON, v.a. im unteren Konzentrationsbereich, erst bei Anwesenheit einer weiteren "Helfer"-Substanz (z. B. FA) mit sichtbaren Effekten greifen kann. Dieser Ansatz wird umso plausibler, betrachtet man die von SMITH und Mitarbeitern (1997) ermittelten Daten aus einen Fütterungsversuch mit paralleler Applikation beider Toxine. Beobachtete Leistungseinbußen wurden hier in erster Linie dem Einfluß der FA zugeschrieben und nicht DON, da das Ausmaß der Effekte deutlich stärker von den variierenden FA-Gehalten beeinflusst wurde. Weiterhin interessant erscheint, dass im Zuge dieser Untersuchung das häufig eingesetzte Soja als Hauptfaktor für eine Kontamination des Futters mit Fusarinsäure identifiziert werden konnte.

Jedoch müssen nicht ausschließlich synergistische Effekte bei einer Mehrfachkontamination resultieren. So zeigte sich bei der simultanen Verabreichung von DON mit T-2 Toxin vielmehr eine antagonistische Wirkung von DON auf die T-2 Toxizität (SCF; 2002).

Die Fusarinsäurebestimmung in den hier verwendeten Weizenchargen erfolgte nach einem halbquantitativen Verfahren, weshalb die Gehalte nur abschätzbar sind. Aufgrund der geringen Retention an RP-Material gelingt eine ausreichende Abtrennung störender Matrixkomponenten mit vertretbarem Aufwand derzeit nicht. Auffallend hohe Konzentrationen dieses Fusarientoxins waren aber nicht enthalten.

#### 6.2.5 MTT-Test

Um die Gesamtoxizität der einzelnen Futtermittel in Abhängigkeit des natürlichen (Weizen) bzw. künstlichen (getreidefrei) Toxingehaltes zu charakterisieren, wurden MTT-Tests durchgeführt (Prof. Gareis, BAFF Kulmbach, GAREIS; 2006). Durch Vergleich der Zytotoxizität in Abhängigkeit des DON-Gehaltes sollten weitere, unter Umständen im natürlich kontaminierten Material vorhandene, toxische Substanzen summarisch erfaßt werden.

Der um Faktor 10 geringer mit Konidien belastete Weizen reagierte überraschenderweise deutlich toxischer, was aber bei Betrachtung der zugehörigen DON-Gehalte plausibel wird. Die stark inokulierte Weizencharge (MTT3) wies mit 8000 µg DON/kg deutlich geringere Toxingehalte auf als der schwach inokulierte Weizen (MTT2) mit 12000 µg DON/kg. Für das Verschnneiden des Getreides zur Erstellung der Endfuttermischungen mit entsprechenden Gehalten an natürlichem DON spielte dieser Sachverhalt allerdings keine Rolle, da letztendlich die mittels GC/MS-Analyse ermittelten Toxinkonzentration im Getreide Grundlage für die Mischungsverhältnisse waren.

Zunächst war vorgesehen, die eingesetzten Futtermischungen (natürlich kontaminiert bzw. reiner Toxinzusatz) jeweils hinsichtlich ihrer Zytotoxizität zu untersuchen. Wirkungsunterschiede zwischen den beiden eingesetzten Toxinformen, wie sie in bisher allen *in vivo*-Studien gefunden wurden, sollten dahingehend aufgeklärt werden, ob eventuell die reine Substanz eine andere Toxizität aufweist als "natürliches" DON.

Ferner sollte die Toxizitätsprüfung einen Beweis für die Wirksamkeit des reinen DON *in vitro* liefern. Aufgrund der sonstigen Futterinhaltsstoffe (Magermilch-/Süßmolkenpulver, Kartoffeleiweiß/-stärke, Cellulose und Mineral-Vitamin-Mix) ergab sich jedoch bereits eine Toxizität der Extrakte ohne Toxinzusatz (sog. Matrixeffekt) gegenüber den verwendeten Zellen bis zur Verdünnungsstufe 5 bis 6. Bei derartigen Matrixeffekten müßten rechnerisch die DON-Werte bei >32 mg/kg im Material vorliegen, um überhaupt einen Toxineffekt sehen zu können.

Ein von DON ausgehender Effekt konnte somit nicht mehr beobachtet werden bzw. wurde durch die "Eigentoxizität" der Matrix überdeckt. Auch eine weitere Überprüfung mit den reinen Extrakten der Hauptkomponenten (Kartoffelpulver bzw. Weizen) ergab für das reine Kartoffelbreipulver leider eine zu hohe Eigentoxizität gegenüber den verwendeten Zellen. Ein möglicher DON-Effekt war im verwendeten Testsystem so nicht prüfbar.

### 6.3 Tierexperimentelle Untersuchungen

#### 6.3.1 Versuchsaufbau

Im Vordergrund stand die Erstellung einer Dosis-Wirkungsbeziehung für das Fusarientoxin DON, welche durch Kurzzeitversuche, unter paralleler Verabreichung einer "natürlichen" (Getreidemischung) und "synthetischen" (getreidefreie Mischung) Diät, aufgestellt werden sollte.

Die ersten Durchgänge sollten im Sinne einer Orientierungsstudie der Abschätzung eines Konzentrationsbereiches dienen, ab dem die Leistungsfähigkeit der Tiere, gemessen an der Gewichtsentwicklung, beeinträchtigt wird. Zu diesem Zweck wurde eine Gruppengröße von mindestens fünf Tieren gewählt, um die daraus hervorgehenden Ergebnisse statistisch auswerten zu können (DUFNER et al.; 1992).

Aus Gründen des Tierschutzes mußte die Anzahl der Versuchstiere so gering wie möglich gehalten werden. Trotzdem konnten die Untersuchungen – auch wegen technischer und baulicher Gegebenheiten (Stallkapazität) - nicht in einem einzigen Durchgang mit verschiedenen Toxinstufen parallel durchgeführt werden. Der Versuch war deshalb so zu konzipieren, dass, ausgehend von einem relativ hohen Toxingehalt, im ersten Versuchsabschnitt (4000 µg DON/kg in *Durchgang A*) ein Effekt in beiden Futtervarianten sicher zu erwarten war. Dieses Konzept wurde durch die simultane Verabreichung sowohl einer natürlich kontaminierten, als auch einer getreidefreien Toxinration gegen die entsprechenden Kontrollgruppen umgesetzt.

Um eine exakte Dosierung des reinen Toxins gewährleisten zu können, war die Zuteilung einer definierten Futtermenge erforderlich. Dabei sollte so wenig Reintoxin wie möglich über Futterreste verloren gehen und gleichzeitig die exakte Ermittlung der Futter- und damit der Toxinaufnahme pro kg Körpergewicht sichergestellt werden.



Die Futterrationen waren mit ca. 5 % der  $KM^{0,75}$  so bemessen, daß sie annähernd einer ad libitum Fütterung entsprechen sollte (DÄNICKE et al.; 2003). Die limitierte Fütterung ergab jedoch zu geringe Gewichtsunterschiede, weshalb das ursprüngliche Versuchskonzept angepaßt werden musste.

Für die weiteren Durchgänge war nun eine deutlich aufwändigere tatsächliche ad libitum-Fütterung vorgesehen. Es wurde den Tieren zunächst eine übergroße Futtermenge vorgelegt und ein Zeitrahmen zur Futteraufnahme festgelegt. Durch Rückwaage und Trocknung der Futterreste wurde die tatsächlich aufgenommene Futtermenge berechnet.

Diese Änderung in der Futtermenge machte es erforderlich, zunächst sichere Daten hinsichtlich der Futteraufnahmekapazität zu ermitteln, damit die Menge des benötigten Reintoxins abgeschätzt werden konnte. Somit wurde das Programm zunächst ausschließlich mit natürlich kontaminiertem Material und zwei unterschiedlichen Toxinstufen fortgesetzt. Nach den Ergebnissen dieses Abschnitts wurde dann derselbe Versuch mit neuen Tieren, der getreidefreien Diät und  $DON_{rein}$  wiederholt. In beiden Durchgängen wurden entsprechende Kontrollgruppen mitgeführt.

Die aus diesen drei Versuchen erhaltenen Ergebnisse zeigten bereits auf, dass eine einfache Dosis-Wirkungsbeziehung nicht ohne weiteres aufgestellt werden konnte, da in Abhängigkeit der Darreichungsform unterschiedliche Effekte erzielt wurden. In *Durchgang D* wurden hierzu kausalanalytisch ausgerichtete *in vitro*-Versuche durchgeführt.

### 6.3.2 Tiere und Haltung

Es wurden ausschließlich männliche kastrierte Tiere verwendet, da diese nach Angaben aus der Literatur empfindlicher reagieren als weibliche oder nicht kastrierte Ferkel (ROTTER et al.; 1995). Darüber hinaus wurden die Tiere aus einer möglichst geringen Anzahl von Würfen ausgewählt um die genetische Variation so gering als möglich zu halten. Durch die Bereitstellung getreidefreien Bei- bzw. Absetzfutters konnte ein Kontakt mit Trichotheceen vor Versuchsbeginn weitestgehend ausgeschlossen werden.

Während das Absetzen der Tiere im ersten Versuchsabschnitt (*Durchgang A*) zeitgleich mit der Umstallung stattfand und bei allen Tieren Durchfall auftrat, erfolgte das Absetzen in den beiden nachfolgenden Durchgängen (*Durchgang B, C*) noch im Erzeugerbetrieb. Die Tiere verblieben somit eine Woche länger im Abferkelstall; die Adaptationszeit im Versuchsstall verkürzte sich um eine Woche.

Der Absetzvorgang beim Ferkel ist ernährungsphysiologisch immer mit Stress verbunden. Die intestinale Enzymausstattung der Ferkel geht bei der Geburt mit einer hohen Laktase- und Lipaseaktivität einher, wohingegen die Aktivitäten von Amylase und Proteinasen (Trypsin, Chymotrypsin) als gering zu bezeichnen sind. Die beiden letztgenannten Enzymgruppen steigen erst mit zunehmendem Alter an.

Durch das Absetzen und den damit verbundenen Streß wird die Aktivität der Verdauungsenzyme kurzfristig soweit abgesenkt, dass es zum Auftreten von Durchfallerscheinungen kommen kann. Eine weitere wichtige Rolle spielt hierbei auch die pH-Absenkung im Magen sowie Verdauung und Dickdarmfermentation. Sie werden durch Proteine und basische Mineralstoffe im Futter (Pufferung der Magensäure) mit beeinflusst. Die erniedrigte Ausschüttung von Verdauungsenzymen bedingt einen erhöhten Proteinumsatz im Intestinum, wodurch vermehrt vergärbare Substrat im Dickdarm anfällt, welches zum sog. Absetzdurchfall führt.

Allerdings sind die Adaptationsvorgänge im Ferkeldarm von komplexer Natur und gehen über eine reine Enzymaktivitätsanpassung hinaus. Das intestinale Milieu (Futterkeimgehalt, hoher exogener Keimdruck) und die Funktion der resorbierbaren Oberfläche sind ebenso von Bedeutung wie die mikrobielle Besiedlung. Weitere streßfördernde Faktoren, wie Trennung von der Mutter, Umstallung, Änderung von Fütterungs- und Tränketechniken verschärfen die Situation beim Absetzen noch zusätzlich. Da auch die angebotene Futtermenge eine Rolle spielt, sollten Ferkel beim Absetzen streng restriktiv gefüttert werden (JEROCH et al.; 1999).

Durch die zeitliche Trennung von Stallwechsel und Futterumstellung sollte die Belastung der Tiere auf ein Mindestmaß reduziert werden und damit die Durchfallproblematik in den ersten ein bis zwei Wochen der Adaptationsphase umgangen werden. In der Praxis zeigte sich der gewünschte Effekt leider nicht, bei allen Ferkeln in allen Durchgängen trat nach der Einstellung in den Versuchsstall Durchfall auf. Aber sowohl die Symptomatik, als auch das Fehlen weiterer Krankheitszeichen (Inappetenz, Fieber, Apathie) ließ annehmen, dass in erster Linie die Adaptation an die neue Umgebung sowie ggf. die stallspezifische Flora für den aufgetretenen Durchfall verantwortlich zeichnete.

### 6.3.3 Gewichtsentwicklung (Lebendmasse, Lebendmassezunahme)

Als Hauptparameter zur Messung erster Toxineffekte sollten Gewichtsentwicklung und Futteraufnahme dienen. Die individuelle Körpermasse der einzelnen Tiere unterlag aber bereits zu Beginn jedes Versuchsabschnittes, unabhängig vom Zeitpunkt des Absetzens und Umstallens, einer relativ großen Variation (Tabelle 14).

Während in *Durchgang A*, vermutlich aufgrund des restriktiven Fütterungsregimes, die Abweichung der Einzeldaten vom Mittelwert noch relativ konstant blieb, kam es unter ad libitum-Fütterung in den nachfolgenden *Durchgängen B* und *C* zu einer deutlich stärkeren Auseinanderentwicklung der Einzelgewichte.

Höhere Streuungen und eine dadurch bedingte Verschleierung der erwarteten Toxineffekte wurden während des gesamten Versuches offenkundig. Trends, die sich bei graphischer Darstellung der mittleren Gewichte in den Diätgruppen erkennen ließen, waren vielfach aufgrund der hohen Standardabweichung nicht signifikant. Die Ursachen hierfür sind zum einen in der verwendeten Tierzahl, in entscheidendem Maße jedoch in der fehlenden Standardisierbarkeit der Individuen zu suchen.

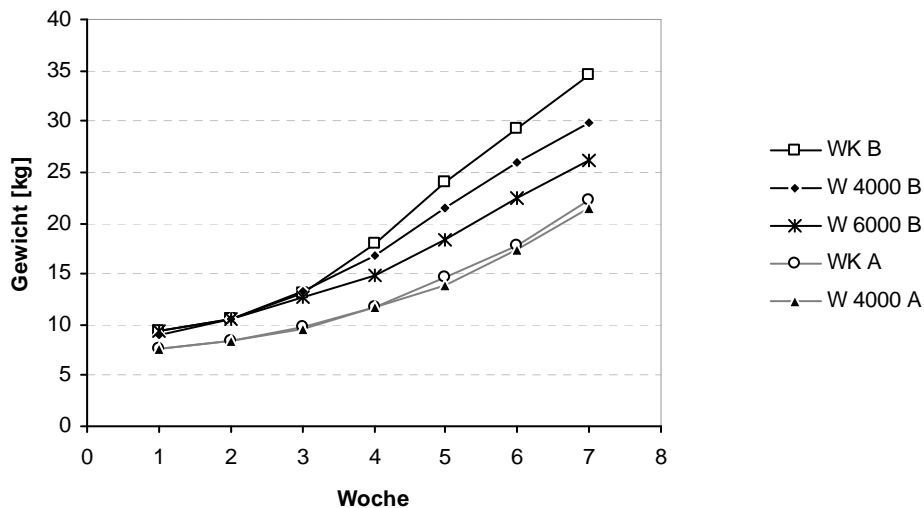
Betrachtet man allein die Gewichtsentwicklung der Kontrolltiere sowie der mit 4000 µg DON<sub>nat</sub>/kg belasteten Tiere, so wird der Einfluß des Futterregimes deutlich (Abbildung 35). Selbst die hochbelasteten Tiere aus *Durchgang B* zeigten eine deutlich bessere Entwicklung, als die restriktiv gefütterten Tiere in *Durchgang A*.

Diese Ergebnisse decken sich mit den Untersuchungen von GOYARTS et DÄNICKE (2005), bei denen ebenfalls in einem vergleichenden Versuch restriktiv und ad libitum gefüttert wurde. Auch in den täglichen Zunahmen wurde im ersten Versuchsabschnitt (*Durchgang A*) zunächst nur ein Trend hinsichtlich einer toxinbedingten Zuwachsminderung (v.a. getreidefreie Gruppe) sichtbar.

Betrachtet man die mittleren Anfangs- (Tag 0) und Endgewichte (Tag 28), ergibt sich in der Belastungsgruppe jeweils ein Unterschied von 11% (13,6 kg Gesamt-LMZ in Kontrolle, 12,4 kg Gesamt-LMZ in der Belastungsgruppe) in der natürlich kontaminierten Futtervariante bzw sogar von 12% (14,8 kg Gesamt-LMZ in Kontrolle, 13,3 kg Gesamt-LMZ in der Belastungsgruppe) in der getreidefreien Variante unter Reintoxinzusatz. Aufgrund der hohen tierindividuellen Streuung (insbes. Kontrolle) in Verbindung mit der geringen Tierzahl war jedoch eine statistische Absicherung nicht möglich.

Im weiteren Verlauf dagegen ließ sich ausschließlich in der Weizengruppe ein tendenziell vermindertes Wachstum beobachten. Die größten tierindividuellen Unterschiede fielen in der getreidefrei gefütterten Gruppe mit teilweise extrem niedrigen täglichen Zunahmen auf (Tabelle 30 Tier 3, 15, 20). Derartige Ausreißer waren allerdings nur sporadisch und ebenso in der Kontrollgruppe zu finden, wodurch ein Zusammenhang mit der DON-Konzentration im Futter unwahrscheinlich wird. Eine Beteiligung anderer, innerer (Tiergesundheit) und/oder äußerer (Haltungs- u. Umweltbedingungen) Faktoren wurde nicht offensichtlich.

Die ermittelten Zuwachsraten lagen selbst bei restriktivem Fütterungsregime (*Durchgang A*), sowohl in der Kontroll-, als auch in der Belastungsgruppe im oberen Bereich der zu erwartenden Werte (Tabelle 14), so dass insgesamt unter den gegebenen Versuchsbedingungen und unabhängig von einer Toxinbelastung von einer hervorragenden Entwicklung der Tiere ausgegangen werden kann.



**Abbildung 35** Gewichtsentwicklung der mit Weizen gefütterten Tiere aus *Durchgang A* (DG A, restriktive Fütterung) und *Durchgang B* (DG B, ad. lib. Fütterung). WK A/B: Weizen Kontrolle *Durchgang A/B*; W 4000 A/B:  $\text{DON}_{\text{nat}}$  4000  $\mu\text{g}$  DON/kg *Durchgang A/B*; W 6000 B:  $\text{DON}_{\text{nat}}$  6000  $\mu\text{g}$  DON/kg DG B

Die Futteraufnahme erschien in beiden Diät-Gruppen ( $\text{DON}_{\text{nat}}$ /  $\text{DON}_{\text{rein}}$ ) abhängig vom DON-Gehalt vermindert, wenngleich auch hier, aufgrund der hohen tierindividuellen Streuung die Unterschiede nicht signifikant waren, sondern nur als Trends angesprochen werden können. Insgesamt wurde bei Getreidefütterung eine etwas bessere Entwicklung der Tiere hinsichtlich Futteraufnahme (v.a. Versuchswoche 2 und 4) und Wachstum resp. Körpermasse augenscheinlich (Tabelle 27). Während, bezogen auf die Futteraufnahme, die Daten relativ dicht beieinander lagen, kam es bei der Ermittlung des Futteraufwandes (kg Futter/kg Zuwachs) durch die eingehenden Werte aus den täglichen Zunahmen wiederum zu einer großen Varianz. Auch hierbei können die Ausreißer aufgrund ihres sporadischen Auftretens nicht eliminiert werden (Tabelle 31).

Trotz der relativ schwankenden Werte läßt sich in beiden Futtergruppen unter Toxineinwirkung eine tendenziell schlechtere Futterverwertung feststellen. Dies widerspricht Aussagen anderer Autoren, welche, z. T. in pairfed-Untersuchungen, mit steigender DON-Konzentration offensichtlich eine bessere Futterverwertung verzeichnen konnten (BERGSJØ et al.; 1992, ROTTER et al.; 1994, ØVERNES et al.; 1997), wodurch eine Erholung der behandelten Tiere im weiteren Versuchsverlauf erklärt wurde.

Durch die Versuchsanordnung sowie die Art der Aufstallung (Einzelboxen) und Fütterung fällt ein Futtermittelverlust, wie von anderen Autoren festgestellt, hier nicht ins Gewicht. Dennoch ist bei Trogfütterung auch immer mit einem gewissen Futtermittelverlust zu rechnen, da Ferkel sich oftmals regelrecht durch den Trog wühlen. Die angebotene Futtermittelmenge wird somit nicht komplett aufgenommen, sondern ein Teil kann schlichtweg verloren gehen, was sich wiederum in einem scheinbar erhöhten Futteraufwand niederschlagen kann (GOYARTS et DÄNICKE; 2005).

Nach Auswertung der Ergebnisse konnte in *Durchgang A* weder reines DON, noch DON natürlichen Ursprungs eine signifikante Beeinträchtigung von Futteraufnahme und Gewichtsentwicklung auslösen. Die Ursache hierfür war wohl zunächst hauptsächlich im restriktiven Fütterungsregime zu suchen.

Ähnliche Ergebnisse wurden bereits in einem Fütterungsversuch mit NIV (5 mg/kg Futter) beim Schwein beobachtet. Hier wurde dies zunächst der Tatsache zugeschrieben, dass NIV, im Gegensatz zu DON, in erster Linie unverändert über die Fäces ausgeschieden wird und evt. über eine adaptierte Darmflora deoxidiert und damit detoxifiziert worden ist. Durch diesen Vorgang könnten die in der Literatur beschriebenen Erholungsphänomene erklärt werden (HEDMAN; 1996).

Das Futteraufnahmevermögen der Tiere wird durch vielerlei Faktoren beeinflusst wie Stallverhältnisse, Futterbeschaffenheit und letztlich auch durch das Tiermaterial selbst. Die normalerweise bei freier Futterverfügbarkeit von Läuferschweinen im Gewichtsabschnitt von 20-30 kg aufgenommene Futtermittelmenge liegt in etwa zwischen 1100 und 1600 g pro Tier und Tag (KIRCHGEBNER; 1997). Die Futteraufnahmen in diesem ersten Versuch lagen durchschnittlich knapp unter 1100 g. Das Ziel, Vorlage der maximalen Futtermittelmenge, welche vollständig aufgenommen wird, konnte erfüllt werden. Das Fütterungsregime entsprach aber einer restriktiven Fütterung, obwohl die dem Mastabschnitt entsprechenden Zunahmen die gute Entwicklung der Tiere belegen.

Obwohl die Menge des vorgelegten Futters reichlich bemessen war, blieb zu vermuten, dass sie von Tieren der Belastungsgruppen gerade eben noch vollständig aufgenommen werden konnte, die Futteraufnahmekapazität der Kontrolltiere jedoch noch nicht erreicht war. Eine divergierende Entwicklung der Gewichte wurde hierdurch zwar unterdrückt, ein evt. bereits einsetzender Toxineffekt jedoch möglicherweise überdeckt.

Eine verminderte Futteraufnahme spiegelte sich auch im Freßverhalten der Tiere wider. So benötigten Tiere bei Vorlage einer kontaminierten Ration deutlich länger für die vollständige Aufnahme der Futtermittelmenge. Während Tiere aus einer Kontrollgruppe etwa 85% des Futters bereits innerhalb der ersten Stunde nach Vorlage der Ration aufnahmen, wurden dagegen bei Vorlage eines kontaminierten Futters in der selben Zeit nur ca. 39% der Ration aufgenommen (GOYARTS et DÄNICKE; 2005).

Um diesem Sachverhalt nachzugehen, wurde das Versuchskonzept im nachfolgenden *Durchgang B* durch Umstellung auf eine ad libitum Fütterung modifiziert. Gleichzeitig sollte die Wirksamkeit des im natürlich kontaminierten Weizen analytisch nachgewiesenen DON *in vivo* abgeklärt werden. Zu diesem Zweck wurde der Versuch zunächst nur unter Einsatz des natürlich kontaminierten Materials fortgeführt.

Dieses Vorgehen war für die Konzeption weiterer Durchgänge unabdingbar. Einerseits wurde mit 6000 µg DON<sub>nat</sub>/kg Futter der maximal erzielbare DON-Gehalt in der Endmischung (= 12.000 µg DON/kg Getreide) auf seine Wirksamkeit *in vivo* geprüft, zum anderen war dies auch, laut Versuchsantrag, die vorgesehene Höchstmenge, die in diesem Versuchsvorhaben überhaupt getestet werden sollte und damit genehmigt war.

Die im zweiten Vorversuch (*Durchgang B*) geringgradig höheren Anfangsgewichte (Tabelle 14) erklären sich durch das modifizierte Vorgehen beim Absetzen. Hierdurch wurde die gemilderte Stressituation beim Stallwechsel deutlich, auch wenn sich das Auftreten des Durchfalls durch diese Maßnahme nicht umgehen ließ. Im Gegensatz zu *Durchgang A*, waren in *Durchgang B*, abhängig vom DON-Gehalt, deutliche Unterschiede in der Gewichtsentwicklung zu verzeichnen.

Mit Verabreichung der ersten kontaminierten Rationen war der Appetit sichtlich herabgesetzt, die täglichen Zunahmen deutlich reduziert. Die Zunahmen der hochbelasteten Tiere (6000 µg DON<sub>nat</sub>/kg Futter) waren bereits in der ersten Woche der Toxinexposition im Vergleich zur Kontrolle signifikant niedriger. Auch die Tiere der mittleren Belastungsgruppe (4000 µg DON<sub>nat</sub>/kg Futter) zeigten deutliche, wenn auch, aufgrund der hohen tierindividuellen Streuung, nicht signifikant verminderte Endgewichte.

Betrachtet man die Einzeldaten, so wird deutlich, daß durch teilweise extrem schwankende tägliche Zunahmen einzelner Tiere hier eine hohe Standardabweichung zum Tragen kommt, wobei es sich bei den Ausreißern nicht kontinuierlich um die selben Tiere handelt (Tabelle 33).

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch BÖHM et RAZZAZI (2003) in einem Fütterungsversuch mit Schweinen. Erstaunlicherweise zeigten in diesem Versuch besonders kleine Ferkel, die kurz nach dem Absetzen mit hohen DON-Gehalten belastet wurden, kurzandauernde leistungssteigernde Effekte.

Es war offensichtlich, dass das analytisch nachgewiesene Toxin tatsächlich *in vivo* wirksam war und mit dem inokulierten Weizen durchaus ein leistungsmindernder Effekt provoziert werden konnte. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde nachfolgend der dritte Versuchsabschnitt (*Durchgang C*) analog unter Verwendung von Reintoxin in getreidefreier Futtermischung bei ad libitum-Fütterung durchgeführt. Effekte hinsichtlich einer DON-Wirkung waren hierbei allerdings nicht festzustellen. Die geringen Trends in der Gewichtsentwicklung erscheinen aufgrund der hohen Standardabweichung bei ad libitum-Fütterung sogar geringer als in *Durchgang A*.

Die Wirkungsunterschiede der beiden Toxinvarianten erklären sich möglicherweise aus unterschiedlichen Resorptionszeiten. DON, in reiner Form einer Ration zugesetzt, wird sofort und schnell absorbiert, wodurch eine hohe endogene Eliminierungsrate sowie eine geringe mikrobielle Detoxifizierung resultiert.

Die Darmflora kommt, aufgrund der schnellen Elimination aus dem Darmtrakt, kaum bis gar nicht mit dem Toxin in Berührung. Im inokulierten Weizen liegt das Toxin zunächst an die Matrix gebunden vor, woraus sich auf eine verzögerte Resorptionsrate schließen läßt. Eine langsamere endogene Eliminierung könnte hier, durch längere Verweil- und Kontaktzeiten im Darm, eine allmählich einsetzende und effektive mikrobielle Detoxifizierung ermöglichen. Eine Wechselwirkung von Toxinen käme allenfalls in den Gruppen mit inokuliertem Weizen in Betracht. In der getreidefreien Variante sind aufgrund der Versuchsanlage gerade solche Wechselwirkungen gänzlich auszuschließen.

#### 6.3.4 Futteraufnahme

Die Beeinträchtigung der Futteraufnahme sowohl in den einzelnen Wochen, als auch gemittelt über den gesamten zweiten Versuchsabschnitt (*Durchgang B*), ließ sich eindeutig auf die Toxinwirkung zurückführen. Bei ad libitum-Fütterung zeigte sich bereits von Anfang an ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Futteraufnahme zwischen den hochbelasteten Tieren und den Kontrolltieren, was sich bis in die zweite Versuchswoche fortsetzt.

Dieser Unterschied läßt sich aufgrund der hohen Streuung in der dritten Versuchswoche nicht statistisch absichern, wird aber in der letzten Expositionswoche wiederum signifikant. Hier traten einzelne Tiere durch Aufnahme besonders geringer Futtermengen hervor (Tabelle 34, Tier 13 und 14). DON-bedingte Leistungseinbußen sind in erster Linie einer verminderten Aufnahme des kontaminierten Futters zuzuschreiben, wie bereits im obigen Abschnitt bezüglich der Änderung des Fütterungsregimes für die nachfolgenden Durchgänge beschrieben.

Aus den hier erhobenen Daten geht hervor, dass die toxinbedingten Leistungseinbußen, sofern sie zu verzeichnen waren, über die gesamte Versuchsdauer hinweg anhielten. Im Gegensatz zu anderen Berichten konnte in der vorliegenden Untersuchung keine Erholung der Tiere bei fortdauernder Belastung beobachtet werden (ROTTER et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b, TRENHOLM et al.; 1994, ROTTER et al.; 1995). Hierzu war der Beobachtungszeitraum vermutlich zu kurz. Die Gewichtunterschiede blieben über den gesamten Versuchszeitraum nicht nur bestehen, sondern vergrößerten sich sogar von Woche zu Woche, wie anhand der divergierenden Wachstumskurven zu erkennen ist.

Der für das Wachstum erforderliche Futteraufwand ist in diesem Versuch stellenweise deutlich kleiner als üblich. In der Regel wird über die gesamte Mastperiode eine Futtermenge von 2 kg für die Zunahme von 1 kg Körpermasse pro Woche benötigt. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass in diesem Versuch nur ein kurzer Ausschnitt der gesamten Mastperiode - und darüber hinaus die Phase mit den maximalen Zunahmen pro Körpermasseeinheit in der Lebenszeit - betrachtet wurde.

Die im Versuch erfaßten Zunahmen bei ad libitum-Fütterung übersteigen bei weitem die durchschnittlich erwarteten Zuwachsraten in den jeweiligen Gewichtsabschnitten. Demzufolge ist insgesamt von einer sehr guten Entwicklung der Tiere während der Versuchszeit auszugehen.

Zusammenfassend muß festgestellt werden, dass die zugeteilte Ration in *Durchgang A*, mit ca. 5 %  $KM^{0,75}$ , unter der Futtermenge lag, die bei freiem Zugang tatsächlich aufgenommen wurde. Es ist anzunehmen, dass das Fütterungsregime und damit die Toxinmenge pro kg Körpergewicht somit einen bedeutenden Einfluß auf die leistungsmindernden Effekte von DON im Tier hat. Allerdings läßt sich dieser Sachverhalt hier nicht belegen, da die Menge aufgenommenen Toxins in *Durchgang A* wie *B* bei einer Belastung von 4000 µgDON/kg Futter annähernd gleich ausfiel (Abbildung 33).

Auffällig ist in diesem Zusammenhang, dass die effektiv aufgenommene DON-Menge in *Durchgang A*, aufgrund der hohen Toxinkonzentration im Futter, selbst bei restriktiver Fütterung eigentlich höher war, als bei ad libitum-Verabreichung eines mit "nur" 2000 µg DON/kg kontaminierten Futters (FRIEND et al.; 1982, TRENHOLM et al.; 1984, ROTTER et al.; 1994). Die aufgetretenen Einbußen waren leider aufgrund der geringen Tierzahl und der hohen Standardabweichung nicht signifikant.

Die im *Durchgang C* mit reinem Toxin belasteten Tiere zeigten demgegenüber eine einheitliche, d.h. vom Toxingehalt unabhängige Gewichtsentwicklung. Der Appetit war über den gesamten Versuchszeitraum normal, d.h. trotz ad libitum-Fütterung und den gleichen Konzentrationen an reinem Toxin wie im vorigen Durchgang wurden keinerlei Leistungseinbußen beobachtet. Der konzentrationsabhängige Leistungseinbruch der Tiere im zweiten Versuchsabschnitt (*Durchgang B*) kann somit nicht allein dem Einfluß von DON zugeschrieben werden.

#### 6.3.5 Eigene Ergebnisse im Vergleich mit Literaturdaten

Nach Angaben aus der Literatur ist beim Einsatz von DON in reiner Form ein geringer ausgeprägter Effekt zu erwarten (PRELUSKY et al.; 1994b, TRENHOLM et al.; 1994). In den eigenen Untersuchungen waren die Unterschiede in Gruppe *C* erwartungsgemäß gering. Die begrenzte Tierzahl und hohe Standardabweichung erlaubten hier keine statistische Absicherung. Möglicherweise ist der deutliche Wirkungsunterschied des Toxins unterschiedlicher Herkunft in der Rationsgestaltung begründet.



Im vorliegenden Versuch wurde erstmals ein garantiert toxinfreies Grundfutter in Verbindung mit reinem DON verabreicht. Bislang wurde in der Regel eine herkömmliche Ration für Schweine zusammengestellt, wobei einerseits Mais (FORSYTH et al.; 1977, LUN et al.; 1985, FOSTER et al.; 1986, ROTTER et al.; 1994 et 1995, PRELUSKY et al.; 1994b), andererseits Hafer (BERGSJØ et al.; 1992) oder Weizen (TRENHOLM et al.; 1994) mit einem Anteil von 70 bis 80% eingesetzt wurde (Abbildung 36).

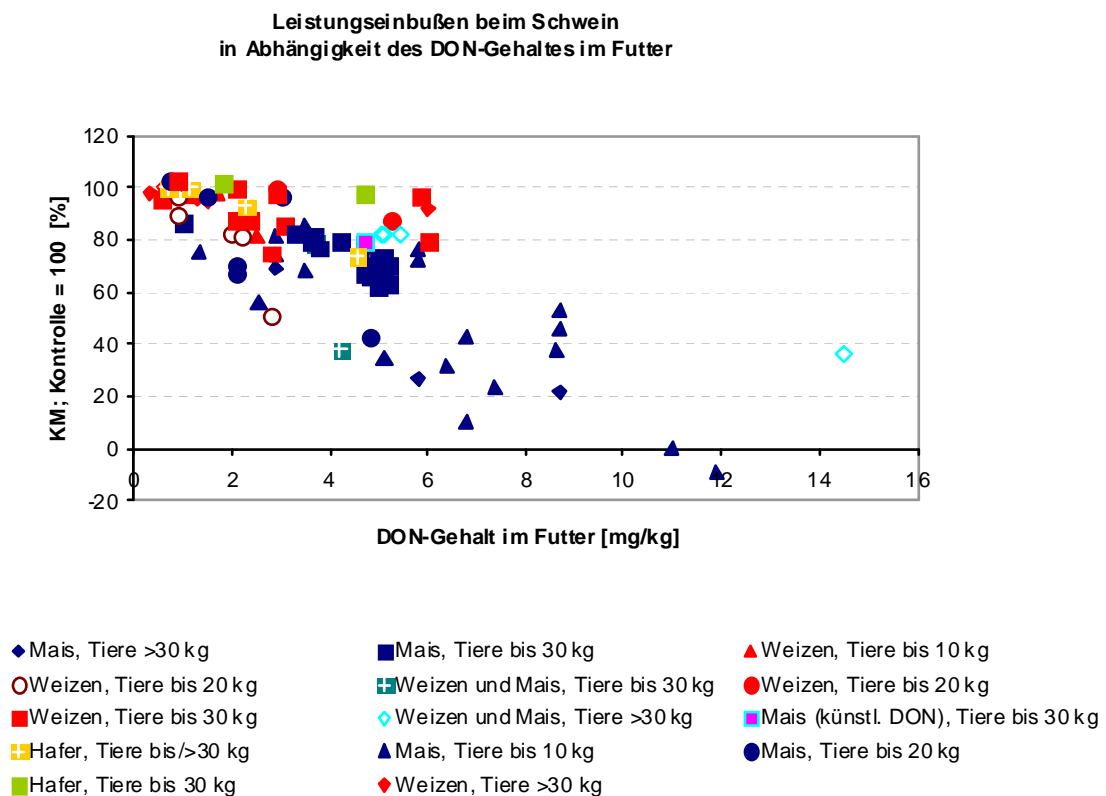
Als natürliche DON-Quelle wurde meist mit *Fusarium* befallenes Getreide oder kontaminierter Mais verwendet. Zur Herstellung der belasteten Futtermischungen wurde unbelastetes Getreide bzw. Mais, entsprechend dem gewünschten Toxingehalt in der Gesamtration, durch natürlich kontaminiertes Material ersetzt.

Je nach den Gehalten im kontaminierten Getreide bzw. Mais wurden demzufolge oft nur geringe Anteile des unbelasteten Materials durch hochbelastetes ersetzt, wodurch eine inhomogene Toxinverteilung möglich war. Darüberhinaus wurde das reine Toxin bisher immer einer Grundfuttermischung zudotiert, welche grundsätzlich Mais und/oder Getreide enthielt (FORSYTH et al.; 1977, FOSTER et al.; 1986, PRELUSKY et al.; 1994b, TRENHOLM et al.; 1994, ROTTER et al.; 1995) und somit weitere nicht untersuchte Toxine oder synergistische Faktoren enthalten konnte.

Es scheint aber nicht nur die Toxinherkunft (natürlich kontaminiert oder labortechnisch gewonnen) eine Rolle in der Toxinwirkung zu spielen, sondern auch die verwendete Getreideart. Die zugrunde gelegte Futtermischung in den beschriebenen Versuchen umfaßte neben Mais, Gerste und Soja (PRELUSKY et al.; 1994b, ROTTER et al.; 1994 & 1995) auch Weizen (TRENHOLM et al.; 1994). Bei der Verwendung von natürlich kontaminiertem Hafer hingegen, waren in einem Fütterungsversuch an Schweinen (BERGSJØ et al.; 1992) im Konzentrationsbereich von 0,5 bis 1 mg DON/kg Futter noch keine Effekte zu verzeichnen. Erst bei Belastungen ab 2 und 4 mg DON/kg Futter konnte eine Verminderung der Futteraufnahme provoziert werden und zwar sowohl bei ad libitum als auch bei restriktiver Fütterung ( $KM^{0,75}$ ).

In nahezu jeder bislang verfütterten Ration (kontaminiert/Kontrolle) war Soja beigemischt, ebenfalls eine oft mit Fusarientoxinen kontaminierte Komponente (BERGSJØ et al.; 1992, ROTTER et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b, TRENHOLM et al.; 1994, ØVERNES et al.; 1997). In dem hier durchgeführten Versuch wurde bewußt darauf verzichtet, was möglicherweise eine Erklärung für ausbleibende Effekte bei Verabreichung des reinen DON in einer getreidefreien Diät sein könnte. Allerdings ist bei Soja nicht zwangsläufig von einer DON-Kontamination auszugehen, wie in neueren Untersuchungen festgestellt werden konnte (VALENTA et al.; 2002, SCHOLLENBERGER et al.; 2007).

Eine Beteiligung weiterer Toxine und/oder synergistisch wirkender Stoffe kann aber nicht ausgeschlossen werden. So werden bereits in der Literatur synergistische Effekte durch Mitwirkung anderer Stoffe, insbesondere Fusarinsäure (FA, siehe 6.2.4), diskutiert (SMITH et al.; 1997). Dies erklärt jedoch nicht, weshalb in der vorliegenden Untersuchung beim natürlich kontaminierten Futter so deutliche Effekte in Erscheinung traten, da die FUS-Gehalte hierfür nachweislich nicht ausreichend waren.



**Abbildung 36** Festgestellte Leistungseinbußen beim Schwein in Abhängigkeit des DON-Gehaltes im Futter. Zusammenfassung der Daten aus verschiedenen, in der Literatur beschriebenen, Untersuchungen unter Anwendung verschiedener Getreidearten (Weizen, Hafer) und Mais, Untersuchung in unterschiedlichen Wachstumsphasen, teilweise auch unter künstlichem Zusatz des Reintoxins DON (YOUNG et al.; 1981, FRIEND et al.; 1982, YOUNG et al.; 1983, SCHÄTZ; 1982, CHAVEZ; 1984, POLLMANN et al.; 1985, FRIEND et al.; 1986a, FRIEND et al.; 1986b, CHAVEZ et RHEAUME; 1986, FRIEND et al.; 1984, FOSTER et al.; 1986, FOSTER et al.; 1987, BERGSJØ et al.; 1992, HE et al.; 1993, PATTERSON et YOUNG; 1993, ROTTER et al.; 1994, RICHTER et al.; 1996, ØVERNES et al.; 1997, WETSCHEREK et al.; 1998, WEIß et al.; 1999)

Neben einer Beteiligung weiterer, evt. noch unbekannter (Myko-)Toxine, könnten aber auch nichtstoffliche Faktoren für Wirkungsunterschiede verantwortlich zeichnen. Nennenswert ist hierbei die Möglichkeit der Toxinmaskierung. Pflanzen besitzen die Fähigkeit, Toxine schrittweise zu metabolisieren.

Im ersten Schritt, der sogenannten Transformationsphase, wird die toxische Substanz dealkyliert oder oxidiert. Diese Reaktion ist für die Konjugation (Phase II), meist an Glucose, erforderlich. In der Kompartimentphase (Phase III) wird der unschädliche Metabolit entweder eliminiert oder in die Zellwand eingebaut. Mykotoxine können somit entweder als Konjugat in gelöster Form oder an Makromoleküle gebunden in der Pflanze vorliegen.

Die Glucosidierung von DON in Weizen ist ein Mechanismus der Pflanze zum Selbstschutz. Aus Sicht der Ernährungssicherheit besteht hierbei allerdings die Gefahr, dass diese Konjugate bei der herkömmlichen Analytik nicht mit erfasst werden. Diese können jedoch zum einen im Magen-Darm-Trakt des Menschen oder auch von Tieren wieder dekonjugiert oder aber bei der Herstellung von Nahrungsmitteln wieder reaktiviert respektive demaskiert werden und so ihre Toxizität zurückerhalten (GAREIS; 1994, BERTHILLER et al.; 2007 & 2009).

Eine Erklärung für die "Unwirksamkeit" von 6000 µg reinem DON/kg Futter über eine evt. Maskierung des Toxins im natürlich kontaminierten Material würde allerdings voraussetzen, daß die Freisetzung des überwiegenden Anteils an DON (> 6000 µg/kg) erst im Magen-Darm-Trakt erfolgt wäre. Dies würde jedoch bedeuten, daß der Hauptteil des Toxins im Weizen maskiert vorlag und sich damit der chemischen Analyse entzogen hätte. Davon ist zunächst nicht auszugehen, zumal bei dem zur Verfügung stehenden Weizen im Zuge der Abreife keine Reduktion des DON-Gehaltes beobachtet werden konnte.

Die Untersuchungen hinsichtlich einer evt. Toxinmaskierung wurden aufgrund der gravierenden Wirkungsunterschiede zwischen natürlich kontaminiertem Material und dem reinen Toxin ausgesetzt. Die aufwändige und zeitintensive Synthese von beispielsweise DON-Pyranosiden sowie die Entwicklung bzw. Etablierung eines direkten Nachweises in natürlich kontaminierten Material hätte nur dann Sinn gemacht, wenn die Unterschiede deutlich geringer ausgefallen bzw. signifikante Effekte in der getreidefrei gefütterten Gruppe überhaupt aufgetreten wären.

Weitere Faktoren, wie Haltungsbedingungen, Stallklima, Infektionsdruck etc. dürfen jedoch ebenfalls nicht außer Acht gelassen werden. Der sogenannte "unbekannte Entzündungsstatus" des Individuums, der möglicherweise aufgrund seines geringen Ausprägungsgrades noch nicht zu augenfälligen Veränderungen führt, könnte der Schlüssel für ein unterschiedliches Ansprechen der Tiere in verschiedenen Versuchen (unterschiedliche Ergebnisse) bzw. in ein und demselben Versuch (hohe tierindividuelle Streuung) sein (ZHOU et al.; 2000).

Aber auch schlichte Unterschiede in der Versuchsdurchführung bei den verschiedenen in der Literatur beschriebenen Untersuchungen müssen berücksichtigt werden. So variieren beispielsweise die Mastabschnitte außerordentlich. Während einerseits mit Absetzferkeln (9 bis 13 kg KM) gearbeitet wurde (LUN et al.; 1985, PRELUSKY et al.; 1994b), verwendeten andere deutlich ältere und damit schwerere Tiere (20 und 45 kg) (FORSYTH et al.; 1977, FOSTER et al.; 1986, BERGSJØ et al.; 1992, TRENHOLM et al.; 1994). Desweiteren wurden in manchen Versuchen auch weibliche Tiere verwendet, deren Empfindlichkeit gegenüber DON erwiesenermaßen deutlich geringer ausgeprägt ist (TRENHOLM et al.; 1994). Somit sind die in der Literatur beschriebenen Versuche bzw. deren Ergebnisse kaum bzw. nicht vergleichbar.

In der vorliegenden Untersuchung wurde eindeutig gezeigt, dass reines DON in einer getreidefreien Ration keine gravierenden Auswirkungen hinsichtlich der Leistung (Futtermittelaufnahme, Gewichtsentwicklung) von Läufer-schweinen hatte. Daraus läßt sich ableiten, dass reines DON nicht allein für die in *Durchgang B* und anderen Untersuchungen festgestellten Wirkungen verantwortlich gemacht werden kann. Dieser Sachverhalt ist umso erstaunlicher, da die Substanz, in Reinform zugesetzt, nicht erst aus der Futtermatrix herausgelöst werden muß sondern sofort zur Absorption zur Verfügung steht (DÄNICKE et al.; 2008). Es muß vermutet werden, dass weitere Faktoren (unbekannte/nicht untersuchte Substanzen im Fusarium-kontaminierten Getreide) hinsichtlich der Toxinwirkung mitverantwortlich sind.

## 6.4 Weitere Untersuchungen

### 6.4.1 Blut

#### 6.4.1.1 Thyroxingehalte

Bei den Substrat- und Enzymanalysen zeigte sich als einziges der Serum-Thyroxin-Gehalt allein durch die verabreichte Toxindosis beeinflusst (Tabelle 19, Abbildung 12). Der Effekt war allerdings nur im ersten Abschnitt (*Durchgang A*) klar zu belegen. Ähnlich wie bei ROTTER et al. (1994), war mit steigender DON-Konzentration im Futter ein signifikanter Anstieg des Wertes in der getreidefrei gefütterten Belastungsgruppe zu verzeichnen. Der Trijodthyronin-Gehalt (T3) blieb dagegen unverändert, was sich aus der bedarfsgerechten Umwandlung von T4 zu T3 in peripheren Körperzellen erklären läßt.

Das hormonell aktivere T3 bewirkt wahrscheinlich eine direkte Aktivierung des Zellkerns und der Mitochondrien. Die Stimulation der  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase-Aktivität der Zellmembran dagegen ist vielmehr dem T4 zuzuschreiben. Die Mitochondrien-Aktivierung geht nahezu sofort mit einer Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs und einer gesteigerten ATP-Synthese einher, gefolgt von einer Vermehrung dieser Zellorganellen (KRAFT et DÜRR; 1999). Somit kann der Effekt allgemein als eine Anregung von Stoffwechselfunktionen angesehen werden.

Im Zuge einer Stoffwechselaktivitätssteigerung kommt es immer auch zu einem erhöhten Energieverbrauch, welcher sich durch gesteigerte Futteraufnahme oder aber vermehrten Abbau von Körpermasse zeigt. In früheren Untersuchungen wurden die gefundenen Veränderungen der Schilddrüsenhormongehalte als metabolische Anpassung an eine verminderte Aufnahme *Fusarium*-kontaminierten Futters interpretiert (ROTTER et al.; 1994).

Auf die vorliegende Arbeit läßt sich diese Erklärung jedoch nicht übertragen, da die aufgenommenen Futtermengen zwischen Kontrolle und belasteten Tieren hier bei restriktivem Fütterungsregime nicht unterschiedlich war. Vielmehr wäre ein direkter Einfluß des Toxins auf die T4-Produktion zu vermuten, zumal auch in der Weizengruppe ein deutlicher belastungsabhängiger Trend erkennbar wurde.

Die endogene Wirkung von reinem Toxin könnte besonders hoch sein, da mit einer schnelleren und weitgehenderen Absorption gerechnet werden muß. Erstaunlicherweise lassen sich hier deutlichere Veränderungen bei den getreidefrei gefütterten Tieren mit DON<sub>rein</sub> erkennen. Ausgerechnet die Tiere, die in Bezug auf Gewichtsentwicklung und Futteraufnahme keine Beeinflussung durch das Toxin aufzeigten (DON<sub>rein</sub>) wiesen die deutlichsten T4-Veränderungen auf.

Im Gegensatz zu den von ROTTER et al. (1994) gefundenen massiven T4-Erhöhungen bewegen sich die hier gemessenen Werte im Rahmen eines mäßigen Anstiegs. Sie traten bei den Tieren auf, die sich - betrachtet man die Leistungsparameter - offensichtlich unbeeinträchtigt von der eingesetzten Toxinmenge zeigten.

Die Leistungseinbußen der ad libitum mit natürlich kontaminiertem Weizen gefütterten Tiere spiegeln sich nach den hier erhobenen Daten nicht in einer metabolischen Adaptation wieder (Tabelle 20). Trotz der hochgradig verminderten Futteraufnahmen zeigten sich die Werte unbeeinflusst. Auch im letzten Versuchsabschnitt konnte diese Veränderung im T4-Gehalt trotz deutlich höherer Toxindosen in einem modifizierten Fütterungsregime wider Erwarten nicht reproduziert werden, was sowohl einer direkten als auch einer indirekten Interaktion von DON und thyreoidaler Aktivität entgegensteht.

Abschließend ist anzumerken, dass die Untersuchung der Schilddrüsenfunktion beim Tier nach wie vor problematisch ist, da euthyreote und hypo-/hyperthyreote Werte sich in einem breiten Bereich überschneiden. Aufgrund dieser Tatsache ergibt sich in der Praxis die Notwendigkeit von Stimulationstests zur Diagnostik von Funktionsstörungen (KRAFT et DÜRR; 1999).

#### 6.4.1.2 Triglyceride

Triglyceride bestehen aus Glycerin verestert mit 3 Fettsäuren. Sie tragen keine elektrische Ladung und werden auch als Neutralfette bezeichnet. Die Zufuhr erfolgt exogen mit der Nahrung oder durch endogene Synthese in Hepatozyten (Endoplasmatisches Retikulum). Entgleisungen im Triglyceridhaushalt können somit auf eine Leber- oder Stoffwechselstörung hinweisen.

Beim Schwein sind Referenzwerte bis 44 mg/dl angegeben (KRAFT et DÜRR; 1999). Auch wenn die in der mittleren Belastungsgruppe des zweiten Versuchsabschnitts gemessenen hohen Werte noch nicht als pathologisch erhöht einzustufen sind, so wird doch eine Abstufung deutlich. Diese tendenzielle Abstufung zeigt sich auch in *Durchgang C*. Die Kontrollgruppe weist die niedrigsten Gehalte auf und mit steigender Konzentration des reinen Toxins scheinen die Triglyceridgehalte anzusteigen, auch wenn der gültige Referenzbereich nicht überschritten wird und auch keine statistisch faßbaren Unterschiede bezüglich der Toxindosis dargestellt werden können.

Die gemessenen Werte sind hinsichtlich der Diät und damit auch einer Dosis/Diät-Wechselwirkung signifikant. Somit ist bereits der Futtermittelvariante ein Einfluß auf die Triglycerid-Gehalte einzuräumen. Ein reiner Toxineffekt dagegen läßt sich nicht zeigen.

Nicht außer Acht gelassen werden darf allerdings, dass alle drei Gruppen der beiden Durchgänge bereits mit einer großen Variation in den Versuch gingen und die Gehalte sich im Versuchsverlauf sogar angleichen.

#### 6.4.1.3 Bilirubin

Erhöhte Bilirubingehalte im Serum - beim Schwein über 0,25 mg/dl - verursachen einen Ikterus, der je nach Störung prähepatisch (Hämolyse), hepatisch (Leberfunktionsstörung) oder posthepatisch (Abflußstörung, Galle) bedingt sein kann.

Eine Sonderform des hepatischen Ikterus ist der Inanitionsikterus (bei Futterverweigerung). Energiemangel z. B. durch unzureichende Futteraufnahme, stimuliert die Lipolyse, wodurch freie Fettsäuren im Blut ansteigen. Diese konkurrieren in den Hepatozyten mit Bilirubin um dieselben Transportproteine, so dass eine Hyperbilirubinämie besteht (KRAFT et DÜRR; 1999).

Es liegt nahe, hier einen Toxineinfluß zu vermuten, da sich das Auftreten der erhöhten Bilirubingehalte mit den Leistungseinbußen der belasteten Tiere deckt (Tabelle 19, Tabelle 20). Jedoch ist die Überschreitung des oberen Referenzbereiches bereits zu Versuchsbeginn vorhanden, also direkt nach der Anfütterungsphase. Bis zu diesem Zeitpunkt wurde noch gar kein Toxin verabreicht.

Während des Versuches und damit unter Toxingabe zeigt sich dann eine Annäherung der Werte an die der Kontroll- und mittleren Belastungsgruppe. Die Leistungseinbußen dagegen verschwanden nicht und auch die aufgenommenen Futtermenge steigerte sich nicht wesentlich.

#### 6.4.1.4 Alkalische Phosphatase

Die AP ist in fast allen Geweben des Organismus (z. B. Osteoblasten, Darmschleimhaut, Nierentubuluszellen, Gallengangsepithelien, Leber) in unterschiedlicher Aktivität nachzuweisen, wobei erhebliche tierartliche Unterschiede bestehen. Durch ihr Vorkommen in Osteoblasten besitzen Jungtiere eine erheblich höhere Enzymaktivität als Adulte. Normal sind beim Saugferkel Aktivitäten bis 1300 U/l, beim Absetzferkel bis 700 U/l. Hier fällt auf, dass keine erhöhten Werte auftreten, wie es bei einer eventuell vorliegenden Hepatopathie oder bei längeren Hungerperioden zu erwarten wäre. Die Auswertung zeigt, dass lediglich dem Alter der Tiere sowie dem Versuchstag - welcher ebenfalls im Zusammenhang mit dem Alter steht - ein Einfluss auf die Veränderung dieses Enzyms zugesprochen werden kann.

Die belasteten Tiere mit den stärksten Einbußen zeigten deutlich niedrigere Gehalte auf. Hieraus läßt sich mutmaßen, dass DON evt. direkt das Wachstum negativ beeinflusst. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre beispielsweise eine Hemmung der Proteinbiosynthese in der Leber (ROTTER et al.; 1996, WIDESTRAND et al.; 2001) oder auch eine direkte Hemmung der Osteoblasten, weshalb bei hohen Belastungen die erlittenen Einbußen nicht annähernd kompensiert werden können und Kümmerer entstehen.

#### 6.4.1.5 SDH

Sorbit-Dehydrogenase ist ein leberspezifisches, monolokulär zytoplasmatisches Enzym, welches bei allen gängigen Tierarten ausschließlich bei Erkrankungen der Leber erhöht ist. Die Aussagekraft ist ähnlich der der ALT, welche beim Schwein zur Leberdiagnostik ungeeignet ist, so dass es gewissermaßen als Ersatz dieses Enzyms herangezogen werden kann. Einziger Nachteil ist, dass SDH-Aktivitätssteigerungen nur kurzfristig anzutreffen sind und somit lediglich in der Frühdiagnostik akuter Erkrankungen der Leber sinnvoll einsetzbar sind (KRAFT et DÜRR; 1999).

Im ersten Versuchsabschnitt waren die SDH-Werte der mit natürlich kontaminiertem Weizen behandelten Tiere nur zu Versuchsbeginn (ohne Toxinbelastung) geringgradig erhöht, wobei sie im weiteren Versuchsverlauf sich an die Kontrollen anglichen (Tabelle 19). Dagegen wurde im *Durchgang B* der Einfluß des Toxins deutlich, und der Anstieg der SDH-Gehalte deckte sich mit den Einbußen in Futteraufnahme und täglichen Zunahmen respektive der Toxinbelastung (Tabelle 20). Hier läßt sich tatsächlich von der DON-Konzentration auf eine Beeinflussung der Leber schließen.

Dies gilt aber nur für das natürlich kontaminierte Material, da in *Durchgang C*, wo keine Leistungseinbußen auftraten, trotz gleicher Toxinkonzentrationen kein Einfluss auf Leberzellen ersichtlich wurde.

#### 6.4.1.6 Eiweißfraktionen

Im Allgemeinen findet die Bestimmung des Gesamt-Proteins Verwendung beim Auftreten von Imbalancen im Wasserhaushalt (De- bzw. Hyperhydratation), Durchfall und/oder Erbrechen, Nephro- und Hepatopathien sowie bei Gewichtsverlust und zur sicheren Interpretation von Hämatokritwerten. Jungtiere weisen hierbei einen geringeren Serum-Proteingehalt auf als Adulte (KRAFT et DÜRR; 1999).

Entgegen den Erfahrungen aus früheren Arbeiten (TRENHOLM et al.; 1994, ROTTER et al.; 1994 & 1995), in denen bereits nach ein- bis zweiwöchiger Belastung eine Erhöhung des Serum-Albumins bzw. nach zwei- bis dreiwöchiger Belastung eine Abnahme des Gesamtproteins festgestellt werden konnte, waren Gesamtprotein- und Albumingehalt in den hier dargestellten Untersuchungen nicht signifikant verändert (Tabelle 21, Tabelle 22). Die erkennbaren Trends traten teilweise auch nur sporadisch auf (Albumingehalt), so dass kein direkter Einfluß des Mykotoxins auf die Proteinsynthese nachgewiesen werden konnte.

Eine Senkung der Globulin-Fraktionen (ROTTER et al.; 1995, PRELUSKY et al.; 1994b), hervorgerufen durch DON, konnte in der vorliegenden Untersuchung ebenfalls nicht bestätigt werden. Vielmehr sind diese Abweichungen hier lediglich im Zusammenhang mit den altersbedingten Veränderungen zu sehen. In der Auswertung der Daten zeigte sich ein signifikanter Einfluß der Diät auf die Serum-Proteingehalte, was sich z. B. in den durchweg höheren Albumingehalten der mit Weizen gefütterten Tiere niederschlägt. Vereinzelt Ausreißer mit extrem hohen bzw. niedrigen  $\gamma$ -Globulin-Gehalten traten nur sporadisch auf und waren in allen Gruppen zu finden, so dass ihnen keine Bedeutung im Sinne eines Toxineffektes zugeschrieben werden kann (ROTTER et al.; 1995).

Veränderungen der Serum-Eiweißgehalte, wie sie in der Literatur bezüglich oraler DON-Verabreichung beschrieben sind, traten vorrangig in einer Phase schnellen Wachstums und damit erhöhten Nährstoffbedarfs auf. Möglicherweise können wachstumsbedingte Verschiebungen als toxinbedingte Beeinträchtigung der Proteinsynthese in der Leber fehlgedeutet werden (ROTTER et al.; 1995). Auch konnten die aus den zitierten Untersuchungen bekannten Ergebnisse nicht immer eindeutig dem Toxin zugeordnet werden, da sich auch einschneidende Veränderungen der aktuellen Ernährungssituation, wie beispielsweise Mangelernährung, im Eiweißgehalt (Serumproteinabnahme) widerspiegeln (KRAFT et DÜRR, 1999). Eine Abgrenzung zwischen Toxineinfluß und veränderter Nährstoffsituation war somit, da keine paired-Kontrollen mitgeführt wurden, oftmals nicht möglich.



Demgegenüber konnten in der vorliegenden Arbeit, trotz des Auftretens signifikant verminderter Futteraufnahmen (*Durchgang B*) und daraus resultierender Einbußen in Zuwachs und Endgewichten, keine über die altersbedingten Zunahmen hinausgehenden Veränderungen des Proteinhaushaltes, sowohl zwischen den Gruppen, als auch im Versuchsverlauf innerhalb einer Gruppe festgestellt werden.

Mit Ausnahme der Immunglobuline wird fast das gesamte Plasmaprotein in den Hepatozyten synthetisiert. Ein Einfluß von DON auf den Eiweißhaushalt, vermittelt durch eine Hemmung der hepatogenen Proteinbiosynthese oder über eine Beeinträchtigung der Ernährungssituation, konnte folglich nicht bestätigt werden. Dem mit zunehmendem Alter ansteigenden und durchweg oberhalb des Referenzbereiches liegenden Albumin/Globulin-Quotienten von 0,37 bis 0,51 kommt aufgrund des regelmäßigen Auftretens in allen Gruppen keine Bedeutung zu. Praktischen Wert erhält dieser Parameter, wenn durch eine Abnahme des Quotienten (Anstieg der  $\gamma$ -Globulin-Fraktion) ein infektiöses Geschehen bestätigt bzw. nachgewiesen werden kann.

### *Zusammenfassung*

Nur wenige der untersuchten Blutwerte einzelner Individuen lagen außerhalb der geltenden Normalbereiche. Viele der erfaßten Veränderungen waren oft nur von sporadischem Charakter, traten bisweilen unabhängig von der Behandlung in verschiedenen Gruppen auf und spiegelten sich auch nicht im klinischen Bild wieder. Einzelne Ausreißer, insbesondere bei den Eiweißgehalten/-fraktionen brachten eine hohe Streuung ein, wodurch sich eventuell auftretende Trends nicht absichern ließen.

Überwiegend zeigten die in der Literatur dargestellten, bei oraler DON-Verabreichung gefundenen Veränderungen allerdings kein bestimmtes Muster. Einer Studie der Arbeitsgruppe um ROTTER (1994) zu Folge, blieben beispielsweise ermittelte Kortisolgehalte unter DON-Einfluß unverändert und tendierten erst nach 4-wöchiger Versuchsdauer zu leicht erhöhten Gehalten. Demgegenüber wurden an anderer Stelle signifikant erniedrigte Hämoglobingehalte mit einer hierbei beobachteten Erhöhung des Kortisolgehaltes in Verbindung gebracht (ROTTER et al.; 1995). Es läßt sich nach wie vor kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Toxinbelastung und den Laborergebnissen herstellen.

Die Interpretation von Laborergebnissen zur Beurteilung des Gesundheitszustandes muß unter Beachtung gewisser Rahmenbedingungen geschehen. So handelt es sich bei den jeweils angegebenen Referenzbereichen lediglich um Durchschnittswerte. Obere und untere Grenzwerte sind eher im Sinne von Wahrscheinlichkeiten zu betrachten, denn als absolute Trennlinie zwischen „gesund“ und „krank“. Labordiagnostische Untersuchungsergebnisse müssen daher stets in direktem Kontext mit dem klinischem Erscheinen (auftretenden Symptomen) interpretiert werden. Aussagen, welche allein auf labordiagnostischen Parametern beruhen, sind ohne praktische Bedeutung, zumal die Meßwerte auch bei gesunden Schweinen immer biologischen Variationen unterliegen, welche von verschiedenen Faktoren abhängig sind.

- Diese Faktoren sind: – genetische Unterschiede (rassespezifisch)  
z. B. AST, ALT,  $\gamma$ GT, LDH,  $\alpha$ -HBDH, CK, ALD und  $\alpha$ -Amylase
- Geschlecht  
z. B. 20% höhere Thrombozytenzahl und um 15% höhere Harnstoffgehalte bei männlichen Kastraten, verglichen mit Sauen
- Alter und Gewicht  
z. B. AP und  $\alpha$ -Amylase sowie ALT
- Belastung  
z. B. psychischer Streß (sofortiger Anstieg aller Blutzellen infolge Adrenalinausschüttung und Milzentleerung)

In Kombination mit physischer Belastung kommt es kurzfristig zu sehr starken Veränderungen zahlreicher Blutwerte. Die Meßwerte des roten und weißen Blutbildes können bis zu 40% über den Ruhewert erhöht, die Thrombozytenzahl um etwa 10% vermindert sein. Ferner können Serumprotein- und Enzymwerte sowie der Glukosegehalt um etwa 10%, die Laktatwerte sogar um das 10fache (100%) über den Ruhewert ansteigen.

Als bedeutendste Ursache physiologischer Variation der Blutmeßwerte beim Schwein gilt Blutentnahmestreß (physisch wie psychisch). Dies kann nur durch Verwendung eines Venenverweilkatheters umgangen werden. Allerdings wäre eine solche Maßnahme bei längerer Versuchsdauer aus Tierschutzgründen abzulehnen und auch in praxi nicht umsetzbar. Andere Ursachen (Fütterung, Tageszeit, Geschlecht, Reproduktionszyklus) spielen demgegenüber eine eher untergeordnete Rolle (PLONAIT et BICKARDT; 1997).

Aber auch wenn sich kein eindeutiger Zusammenhang zwischen Toxinexposition und blutchemischer Veränderung herstellen läßt, so sind individuelle und subklinische Veränderungen hierdurch nicht unbedeutend. Insbesondere dann nicht, wenn man berücksichtigt, dass die Kontamination mit Fusarientoxinen auch Lebensmittel umfaßt und damit die menschliche Gesundheit beeinträchtigen könnte.

Auch wenn die Gehalte in Lebensmitteln deutlich unter den hier getesteten Toxinmengen liegen, so erstreckt sich eine Kontamination für den Menschen doch über einen sehr viel längeren Zeitraum (durchschnittliche Lebenserwartung 75 Jahre). Die hier gefunden Erhöhung von T4 könnte möglicherweise eine Rolle bei der idiopathischen Hypertonie des Menschen (Stoffwechselaktivitätssteigerung, siehe sekundäre Hypertonie bei Hyperthyreose) spielen. Demgegenüber könnte eine Beeinflussung der PBS in der Leber evt. Alterungs- und Degenerationsprozessen vorantreiben bzw. sich nachteilig auf Regenerations- und Reparationsprozesse auswirken.

#### 6.4.1.7 IgA

Die Wirkung von DON bzw. Trichothecen auf das Immunsystem sowie der Zusammenhang zwischen DON-Expositionen und erhöhten Serum-IgA-Gehalten bei Mäusen ist in zahlreichen Veröffentlichungen dokumentiert (FORSELL et al.; 1986, PESTKA et al.; 1989, PESTKA et al.; 1990, DONG et al.; 1991, GREENE et al.; 1994, RASOOLY et PESTKA, 1994, WARNER et al.; 1994, HINOSHITA et al.; 1997, YAN et al.; 1998, BANOTAI et al.; 1999a & b). Unter dem Einfluß von DON wird die Differenzierung immunkompetenter Zellen zu IgA-produzierenden Zellen gefördert, wonach von einer gesteigerten IgA-Produktion auszugehen ist.

In der neueren Literatur wird die Erhöhung der IgA-Gehalte bei gleichzeitigem Abfall von IgM und IgG sogar als Haupteffekt einer DON-Exposition (ab 2 mg/kg) beschrieben. Die Differenzierung wird vermutlich durch eine direkte Einwirkung des Toxins auf die PEYERSCHEN Platten ausgelöst, mit nachfolgenden Auswirkungen auf das systemische Kompartiment. Mit dem Anstieg von IgA im Blut erhöhen sich auch die Gehalte von polymerem IgA und die Bildung von IgA-Immunkomplexen (PESTKA et BONDY; 2000).

Erstmals konnte jetzt beim Schwein ein Zusammenhang zwischen DON-Verabreichung und einem Anstieg der IgA-Gehalte festgestellt werden. Hierbei zeigte sich neben einem Alterseffekt (IgA-Anstieg mit zunehmendem Alter) auch ein Dosisseffekt. Es gelang einen signifikanten IgA-Anstieg im Serum bedingt durch geringe Mengen DON (600 und 1200 µg/kg Futter) in der Ration zu belegen (GÖTZ, 2003, DROCHNER et al.; 2004). Hierbei wurde im Versuchskonzept erstmals eine getreidefreie Futtermischung mit einer definierten Menge reinen DONs verabreicht.

Neu waren in der vorliegenden Untersuchung auch die definierten Bedingungen bereits vor Versuchsbeginn, da die Tiere bereits direkt nach dem Absetzen eine garantiert toxisfreie (getreidefreie) Futtermischung erhielten und somit garantiert unbelastet in den Versuch genommen wurden.

Dieses Konzept wurde in der vorliegenden Untersuchung aufgenommen und weiter entwickelt. Die hierbei erhobenen Werte lassen sich aufgrund der großen Streuung der Einzelwerte nicht statistisch absichern, dennoch ist ein eindeutiger Trend zu erkennen. In einem großangelegten Versuch mit einem Vielfachen an Versuchstieren pro Gruppe ließe sich ein Zusammenhang vermutlich belegen.

Im Gegensatz zu den Leistungsparametern (LM, Zunahme) deckt sich der Effekt der beiden Diätvarianten. Sowohl in der natürlich kontaminierten Gruppe als auch in der getreidefrei gefütterten Gruppe zeigten sich dosisabhängige Unterschiede im Serum-IgA-Anstieg.

Der mit vier Wochen relativ kurze Beobachtungszeitraum mag ebenfalls dafür verantwortlich zeichnen, dass hier noch keine signifikanten Unterschiede zu finden waren. Veränderungen der Serum-Ig-Gehalte wurden in der Mehrzahl erst nach einer Behandlungsdauer von 4 bis 5 Wochen offensichtlich (GREENE et al.; 1994, RASOOLY et al.; 1994, HINOSHITA et al.; 1997, YAN et al.; 1998, BANOTAI et al.; 1999a & b).

Zudem wurden bislang alle diesbezüglichen immunologischen Untersuchungen an Mäusen durchgeführt, welche mit einem vielfachen (12,5, 20 und 25 mg DON/kg Futter) der in dieser Arbeit eingesetzten DON-Menge behandelt wurden (DONG et al.; 1994, RASOOLY et al.; 1994, BANOTAI et al.; 1999a). Darüber hinaus scheinen auch die Expositionsbedingungen eine nicht unbedeutende Rolle in der Ausprägung der immunologischen Veränderungen zu spielen. So konnten BANOTAI et al. (1999a) in einem vergleichenden Versuch klare Unterschiede zwischen einer kontinuierlichen und intermittierenden Belastung aufzeigen. Veränderungen in Gewicht und Serum-IgA-Gehalten traten bei Toxinexposition zwar sofort auf, verschwanden aber bei Unterbrechung der Behandlung ebenso schnell wieder.

Die im Blut festzustellenden immunologischen Veränderungen spiegeln sich allerdings nicht in lymphoiden Organen wider. DÖLL et al. (2006) untersuchten immunhistologische Parameter in Milz und Jejunum beim Schwein. Ein Zusammenhang zwischen Veränderungen des IgA-Gehaltes bzw. des  $CD4^+/CD8^+$ -Verhältnisses und einer Toxineinwirkung konnte nicht belegt werden.

Die Bedeutung einer Immunglobulin-Analyse als prädiktivem Wert zur Früherkennung einer DON-Intoxikation vor dem Auftreten klinischer Symptome (insbesondere Leistungseinbußen) erscheint aufgrund der hier dargestellten Ergebnisse eher schwierig. Ähnlich verhält es sich bei dem direkten Nachweis von DON in Körperflüssigkeiten. Betrachtet man die hohe Variabilität der Individuen in einer Schweinehaltung, so könnte dieser Parameter evt. hilfreicher sein, eine DON-Exposition aufzuzeigen. Allerdings läßt sich einerseits zwischen Leistungsrückgang des Individuums und korrespondierender Toxin-Konzentrationen ( $<0,9$  mg/kg) im Blut keine eindeutige Beziehung herstellen (DÖLL et al.; 2003, DÄNICKE et al.; 2008a & b, THIEU et al.; 2009).

Andererseits muß berücksichtigt werden, dass die Eliminationshalbwertszeit aus dem Plasma bei 6 Stunden nach oraler Aufnahme liegt. Somit kommt hinzu, dass eine Blutentnahme relativ zeitnah zur Exposition stattfinden muß.

Schwierigkeiten können sich dabei dann auch aus der Fütterungstechnik ergeben, denn bei Verwendung von Futterautomaten kann kein einheitlicher Expositionszeitpunkt festgelegt werden (GOYARTS et al.; 2006).

#### 6.4.2 Kot

##### 6.4.2.1 DON-Exkretion

Die Untersuchung der "nativen" Kotproben auf DON bzw. DOM-1 bestätigt, dass das Toxin bereits in den vorderen Darmabschnitten (hpts. Magen und Duodenum) nahezu vollständig resorbiert wurde (PRELUSKY et al.; 1988). Auch neuere Untersuchungen von DÄNICKE et al (2003) bestätigen die schnelle Resorption von DON bereits aus dem oberen Verdauungstrakt.

Im Gegensatz zu NIV spielt der enterohepatische Kreislauf für DON nur eine untergeordnete Rolle. Stattdessen zirkuliert es, vor seiner renalen Elimination, primär systemisch. Es lassen sich zwar konzentrationsabhängig geringe Mengen DON und DOM-1 auch in der Gallenflüssigkeit wiederfinden, doch ist dieser Ausscheidungsweg vernachlässigbar (GOYARTS et DÄNICKE; 2006).

Hierbei wird auch deutlich, dass für NIV und seine Deepoxy-Form ein generell anderer Weg der Verstoffwechselung vorliegt. So wurde für DON die vorrangige Ausscheidung über die Niere (77 % Wiederfindung im Harn) angeführt (PRELUSKY et al.; 1988). Demgegenüber fanden HEDMAN et al. (1996) nach oraler Gabe (Fütterung restriktiv) bis zu 89 % des verabreichten NIV selbst sowie in Form seines Metaboliten im Kot wieder. Beide Substanzen scheinen also auf grundsätzlich unterschiedlichem Wege eliminiert zu werden, wobei erwähnenswert ist, dass auch im Urin DOM-1 gefunden werden konnte (DÖLL et al.; 2003).

Weiterführende Untersuchungen bezüglich der Resorption, Metabolisierung, Transformation und Ausscheidung von DON wurden von ERIKSEN (2003) durchgeführt. Auch sie bestätigten eine nahezu ausschließliche Ausscheidung über den Urin. Sie konnten ferner feststellen, dass die Metabolisierung von DON lediglich im Darm bzw. unter Anwesenheit metabolisierender Bakterien stattfinden kann und nicht etwa durch Umwandlung in der Leber möglich ist.

Auch bei direkter Inkubation von humanen Leberzellen mit dem Toxin konnten keine Metabolisierungsvorgänge beobachtet werden. Es konnten nur marginale Veränderungen in der Aktivität der Leberzellhomogenate in Abhängigkeit der DON-Einwirkung festgestellt werden. Lediglich ein vermutlich sekundär eintretender zytotoxischer Effekt war mit fortdauernder Inkubationszeit zu erkennen. So kam es zu einer dosisabhängigen Abnahme des Proteingehaltes und der Albuminsekretion der Hepatozyten und gleichzeitig zu einer Caspase-3-Aktivierung, einem Schlüsselenzym in der Apoptose (KÖNIGS et al.; 2008).

##### 6.4.2.2 DON-Metabolisierung

Anhand der Untersuchungen zur DON-Transformation durch Darmbakterien sollte einerseits versucht werden, die "Unwirksamkeit" des reinen Toxins aufzuklären, und andererseits wurde damit auch der Frage nach einer möglichen Früherkennung einer Trichothecen-Belastung mittels *in vitro*-Test nachgegangen. Basierend auf Literaturangaben (KOLLARCZIK et al.; 1994, HEDMAN; 1996) wurde hierfür ein *in vitro*-System zur Inkubation von Kot mit reinem DON entwickelt.

Generell stimmen die Ergebnisse des zugrundeliegenden *in vitro*-Testsystems sehr gut mit Daten aus entsprechenden *in vivo*-Untersuchungen überein (KOLLARZIK et al.; 1994), so dass es durchaus als ein geeignetes Modell für die Untersuchung der Transformationsfähigkeit von Darmmikroorganismen angesehen werden kann. Ferner können mit dem hier beschriebenen modifizierten Verfahren unter relativ geringen Aufwendungen große Probenzahlen in einem vernünftigen Zeitrahmen zuverlässig und kostengünstig untersucht werden.

Mittels des unter 4.3.5 beschriebenen *in vitro*-Verfahrens (10 Einzelansätze je Kotentnahme je Tier) gelang individuell für jedes Tier (d.h. für jede einzelne Kotprobe) die Klärung folgender Sachverhalte:

- 1 Wiederfindung des zudotierten DON in Abhängigkeit der Matrix und Probenvorbereitung (Proben 1/2).
- 2 Zeitabhängigkeit der Transformation von DON zu DOM (Proben 3/4/5/6).
- 3 Evt. nativ vorhandenes DON bzw. DOM im Kot der Tiere (Proben 7/8 bzw. 9/10 im Vergleich zu Probe 2).
- 4 Für die Umwandlung von DON in DOM zeichnen aktive Darmmikroorganismen verantwortlich (Proben 9/10 im Vergleich zu 2).

Auffallend war, dass in den inaktivierten Proben der belasteten Tiere regelmäßig deutlich mehr als 100% des zudotierten DON gefunden wurden. Aus Ergebnissen von KOLLARZIK et al. (1994) ergab sich das gleiche Phänomen. Aus diesem Grund wurden inaktivierte Proben (ohne Toxinzusatz) direkt mittels HPLC bzw. GC/MS untersucht, aber in keinem einzigen Fall konnten DON bzw. DOM-1 nachgewiesen werden. Eine evt. durch die Inaktivierung bedingte Freisetzung des mit dem Futter aufgenommenen Toxins konnte somit ausgeschlossen werden.

Die Herkunft des Toxins scheint die Entwicklung der Deepoxidierungsmechanismen maßgeblich zu beeinflussen. Ein natürlicherweise DON enthaltendes Futter (hier: Weizenmischung) führt offensichtlich zu einer schnelleren und effektiveren Entwicklung von Metabolisierungsvorgängen, als ein mit reinem DON versetztes Futter (hier: getreidefreie Mischung).

Grundsätzlich stellt sich die Frage, inwieweit die physiologische Darmflora per se in der Lage ist, Trichothecene allgemein und DON im speziellen zu entgiften. Ferner gilt es zu klären, ob durch die Toxinexposition dieser spezielle Stoffwechselweg in verschiedenen Bakterien provoziert werden kann oder ob er auf bestimmte, durch DON in ihrer Entwicklung geförderte Spezies beschränkt ist. Aus früheren Studien ist bekannt, dass Trichothecene die Zusammensetzung der Darmflora in entscheidendem Maße zu beeinflussen vermögen (HEDMAN et PETTERSSON; 1996).

Erste Hinweise darauf, dass die Transformation auf bestimmte Bakterienarten begrenzt ist, ergeben sich aus der Arbeit von HE et al. (1992). Bei der Inkubation von Intestinalinhalt des Schweines (SLIC: swine large intestinal content) mit DON konnte keine Transformationsaktivität der Darmflora und damit keine Umwandlung von DON in den untoxischen Metabolit DOM-1 nachgewiesen werden.

Diese Annahme wurde durch die Arbeiten von ERIKSEN (2003) bestätigt, wonach Untersuchungen zur DON-Deepoxidation beim Schwein zunächst nicht erfolgreich durchgeführt werden konnten, da trotz Toxinexposition über einige Wochen keine Transformationsaktivität nachweisbar war. Die verwendeten SPF-Ferkel mußten offensichtlich erst mit deepoxidierenden Darmbakterien "infiziert" werden. Durch Verbringung des Kotes aus einer Schweinehaltung, deren Tiere nachweislich zur Metabolisierung befähigt waren, gelang es in diesem Versuchsstall eine transformierende Darmflora zu etablieren.

Interessant erscheint hierbei, dass der Erwerb der Deepoxidierungsfähigkeit keine Änderung der bakteriellen Zusammensetzung der Darmflora mit sich bringt. Somit ist also davon auszugehen, dass nicht bei jedem Schwein eine DON-entgiftende Darmflora vorausgesetzt werden kann. Vielmehr scheint diese Fähigkeit auf bestimmte Keime beschränkt zu sein und nicht jedes Bakterium kann die Deepoxidation "erlernen".

Eine Adaptation der Darmmikroflora wird in den unteren Darmabschnitten - vermutlich konzentrationsabhängig - durch das Toxin selbst induziert, verläuft unterschiedlich in Abhängigkeit der Darreichungsform, des Alters und der Vorgeschichte der Tiere. Die von Beginn an mit Weizen gefütterten Tiere (Adaptationszeit) waren bereits vor der eigentlichen Toxinexposition in der Lage, DON in geringem Maße zu deepoxidieren, was möglicherweise auf die minimalen Toxingehalte, wie sie im eigentlich unbelasteten Weizen nachgewiesen wurden, zurückzuführen ist. So wäre durchaus vorstellbar, dass diese subklinischen Konzentrationen des Toxins bereits erste Transformationsvorgänge, noch vor der eigentlichen Belastung, induziert haben könnten.

Hingegen war bei den getreidefrei gefütterten Tieren diese Fähigkeit in sehr viel geringerem Maße entwickelt. Überdies war bei fortschreitender Kartoffelfütterung das "Verlernen" der Metabolisierung zu beobachten. So war in dem zusätzlichen Versuch (*Durchgang D*), nach Fütterung einer Kartoffeldiät ohne Toxinzusatz, nach 188 Tagen in keinem einzigen Inkubationsansatz die Transformation von DON zu DOM-1 nachweisbar. Nach unterschiedlicher Belastung der Tiere waren dann aber bereits nach 10 Tagen wiederum alle Tiere in der Lage, kleine Mengen an DON zu transformieren. Auch hier war diese Fähigkeit bei Tieren, die natürlich kontaminierten Weizen erhielten, deutlich besser ausgebildet und nahm im Versuchszeitraum überproportional zu.

Es wird angenommen, dass eine spezifische Epoxyreduktase für die DON-Deepoxidierung verantwortlich ist. Desweiteren scheint die Transformationsgeschwindigkeit direkt durch die Toxinkonzentration beeinflusst zu sein. Dieser Zusammenhang ließe sich durch eine substratbedingte Induktion und Aktivierung mikrobieller Enzyme erklären. Vermutungen, die die besondere Empfindlichkeit des Schweines gegenüber DON mit deren Unfähigkeit zur Engiftung begründen, sind damit allerdings nicht länger haltbar (HE et al.; 1992).

Aufgrund der ermittelten Ergebnisse muß angenommen werden, daß der Diät (Kartoffel oder "0-Weizen") zugesetztes DON in reiner Form unter Umständen die unteren Darmabschnitte, in welchen die Transformation hauptsächlich stattfindet (Colon), gar nicht erreichte (KOLLARCZIK et al.; 1994). Möglicherweise ist die Ursache hierfür beim Futter selbst zu suchen. Einerseits könnte eine Adsorption des Toxins an die Matrix, z. B. Kartoffelbrei, einer Einwirkung des Toxins auf die Darmflora in den entsprechenden Darmabschnitten (Dickdarm) entgegenstehen, so dass eine Adaptation aufgrund des fehlenden Induktionsreizes gar nicht stattfinden konnte. Ein ähnliches Prinzip könnte auch zugrunde gelegt werden um die "Unwirksamkeit" des reinen Toxins bezogen auf die Leistung der getreidefrei gefütterten Tiere zu erklären.

Die offensichtlich geringere Wirkung des reinen Toxins bei Zugabe zu einer unbelasteten Getreidemischung (FORSYTH et al.; 1977, FOSTER et al.; 1986, PRELUSKY et al.; 1994b, TRENHOLM et al.; 1994) ließe sich hierdurch allerdings nicht erklären. In diesem Zusammenhang wäre eher eine vorzeitige Eliminierung (Zerstörung) des ungeschützten Toxins infolge mangelnder Anhaftung an Futterbestandteile denkbar. So unterliegt DON als Reinsubstanz zur Futtermatrix dotiert einer umgehenden und vollständigen Absorption bereits aus den oberen Abschnitten des Gastrointestinaltrakts.

Eine bereits im Magen abgeschlossene vollständige Aufnahme der Gesamttoxinmenge mit anschließender schneller Metabolisierung und renaler Ausscheidung erklärt einen ausbleibenden Kontakt und damit eine fehlende Entwicklung von Detoxifizierungsmöglichkeit der Darmflora. Bei matrixgebundenen Toxinen ist mit einem deutlich längeren Kontakt zur Intestinalflora und damit mit intensiveren Wechselwirkungen zu rechnen.

Eine weitere mögliche Erklärung für die unterschiedliche Wirksamkeit von DON<sub>nat</sub> und DON<sub>rein</sub> ist in der Toxin-Maskierung, also dem Vorliegen von Toxinen in einer chemisch veränderten Form, zu sehen. Die Erkennung des gesuchten Stoffes wäre demzufolge mit Routinemethoden nicht mehr möglich.



Man nimmt an, dass Interaktionen zwischen Schimmelpilz und Pflanze mit der Maskierung von Toxinen einhergehen könnten, wobei insbesondere den Abwehrmechanismen der Pflanze große Bedeutung zukommt. Neben der schwer zu durchdringenden Cutinschicht und der Bindung an Phytoalexine (Lektine), spielt die Biotransformation hierbei wohl die größte Rolle. Dieser Verteidigungsmechanismus der Pflanze gegen chemisch reaktive Substanzen zeichnet sich durch die Derivatisierung und Konjugation niedermolekularer Stoffe aus. Den wichtigsten Entgiftungsmechanismus für xenobiotische Stoffe stellt hierbei die Anlagerung von Glukose dar (BERTHILLER et al.; 2007), wie bereits unter 6.3.5 beschrieben.

Für Zearalenon ist die Möglichkeit der Maskierung durch Bildung von Glykosiden bereits nachgewiesen. In den vorderen Abschnitten des Verdauungstraktes (Magen, Duodenum) werden diese nicht sehr stabilen Verbindungen sehr schnell gespalten und sind damit im Organismus verfügbar. Bei den bisher angewandten Methoden der Toxinanalyse bleiben diese Konjugate dagegen unentdeckt, d.h. die tatsächliche Bioverfügbarkeit eines Toxins ist möglicherweise deutlich höher, als der mit den herkömmlichen Methoden analytisch faßbare Gehalt (GAREIS; 1994).

Für die vorliegende Untersuchung würde dies allerdings bedeuten, dass mindestens ebenso viel DON in maskierter wie in analytisch faßbarer Form im Weizen hätten vorliegen müssen (insgesamt 24.000 µgDON/kg Getreide). Schließlich konnte durch die Verabreichung von reinem Toxin, im Gegensatz zum natürlich kontaminierten Material, bis zu 6000 µg/kg Futter kein Effekt verzeichnet werden. Bezüglich der Ergebnisse aus der Kotinkubation müsste somit angenommen werden, dass die Transformation möglicherweise erst durch einen sehr viel höheren, durch Demaskierung freigegebenen Toxingehalt ausgelöst wurde. Bei getreidefrei gefütterten Tieren wäre dann damit zu rechnen, dass aufgrund der sehr viel geringeren Konzentration und vor allem der sehr schnellen Resorption, gar kein Toxin mehr in den entscheidenden Darmabschnitten ankommt (PRELUSKY et al.; 1987, GOYARTS et DÄNICKE; 2006).

Dass es sich bei der Adaptation auch um einen zeitabhängigen Prozeß handelt, konnten bereits HEDMAN et PETTERSSON (1997) bei Inkubationsstudien mit NIV deutlich zeigen. Eine dreitägige Belastung mit 100 µg NIV/kg KM reichte hierbei nicht aus, um entsprechende Transformationsprodukte nachweisen zu können. Dagegen konnten in einem weiteren Belastungsversuch (2,5 bzw. 5 µg NIV/kg) fünf von sechs Schweinen bereits nach einer Woche ca. 98 % des verabreichten NIV entgiften, nachdem zuvor sichergestellt worden war, dass vor Versuchsbeginn keines der Tiere deepoxidieren konnte. Nach 3-wöchiger Versuchszeit war auch das sechste Tier dazu in der Lage (HEDMANN et PETTERSSON; 1997). Im Zuge dieses Versuches konnte auch ein Anstieg der Metabolisierungsrate von DON erkannt werden.

Die Befähigung zur Trichothecen-Transformation könnte als Diagnostikum für eine bestehende subakute bzw. chronische oder evt. auch etwas weiter zurückliegende Exposition Verwendung finden. So wurden bei der Beprobung verschiedener Darmabschnitte adulter Schweine hohe DON-Transformationsraten gefunden, obwohl unmittelbar vor der Schlachtung kein Toxin bewußt verabreicht wurde (KOLLARCZIK et al.; 1994).

Letztendlich korreliert die Deepoxidierungs-Fähigkeit der Mikroorganismen nicht mit einer Reduktion der Toxinwirkung bzw. späteren Erholung der Tiere. Aus den angeführten Daten geht hervor, dass gerade die Tiere mit den höchsten Transformationsraten ( $\text{DON}_{\text{nat}}$  in Weizenmischung) auch die stärksten Leistungseinbußen präsentierten. Demgegenüber zeigten sich die mit reinem Toxin gefütterten Tiere, trotz der verabreichten hohen Konzentrationen relativ unbeeinträchtigt, wobei deren Fähigkeit zur DON-Metabolisierung schwächer ausgebildet war.

Wie Metabolisierungsstudien zeigen, läßt sich DON nach oraler Aufnahme korrespondierend zur verabreichten Konzentration in Serum und Urin (und Galle) wiederfinden. DOM-1 dagegen ist, außer im Kot, nur in Urin nachzuweisen (DÖLL et al.; 2003). Auch zeigen die Versuche, dass DON vermutlich mit den flüssigen Anteilen der Nahrung bereits in den oberen Abschnitten des MDT (Magen, Duodenum) resorbiert wird, da bereits nach 3,4 Stunden das Resorptionsmaximum erreicht ist.

Deepoxidationsvorgänge finden aber erst in den unteren Darmabschnitten statt. Somit kann davon ausgegangen werden, dass diese Vorgänge keine Bedeutung hinsichtlich einer Entgiftung des Toxins im Schwein haben (DÄNICKE et al.; 2003, GOYARTS et DÄNICKE; 2006). Auch verläuft die Deepoxidierung im Darm wahrscheinlich zu langsam um für Erholungseffekte verantwortlich sein zu können. Es konnte nachgewiesen werden, dass Bakterien für eine Deepoxidierung unabdingbar sind, denn ein Versatz allein mit Leber-Homogenat beispielsweise führte nicht zu einer Deepoxidierung. Eine mögliche Adaptation an DON muß somit anders erklärt werden (ERIKSEN; 2003).

Zusammenfassend muß nach den bisherigen Erkenntnissen davon ausgegangen werden, dass die unterschiedliche Wirksamkeit von DON aus verschiedenen Quellen nicht über eine Transformation durch Darmbakterien in den unteren Darmabschnitten erklärt werden kann. Auch ist eine Erholung der Tiere trotz anhaltender Exposition nicht ohne weiteres über eine Adaptation der Tiere (Detoxifizierung durch die Darmflora) zu erklären, da zum einen in den kranialen Abschnitten (Magen, Duodenum), also dem Ort der Toxin-Resorption, kaum Transformationsaktivität nachgewiesen werden konnte und zum anderen eine bereits vorhandene transformierende Darmflora nicht vor Leistungseinbußen im Zuge einer DON-Belastung schützen kann (KOLLARCZIK et al.; 1994, DROCHNER et al.; 2001).

Auch ist die Deepoxidierung als Marker für eine DON-Belastung ungeeignet, da die Fähigkeit zur Deepoxidierung nicht unbedingt von vornherein vorhanden sein muß und auch nicht allein durch den Kontakt mit DON „erlernt“ werden kann (ERIKSEN; 2003)

### 6.4.3 Organe

#### 6.4.3.1 Enzymatik

Ähnlich den Ergebnissen von MADAJ und Mitarbeitern (1999) konnten in der vorliegenden Untersuchung teilweise signifikanten Veränderungen der untersuchten Enzymaktivitäten festgestellt werden. Der Anstieg der mucosalen ALT in *Durchgang A* läßt einen Dosisseffekt der Behandlung vermuten.

Allerdings waren die Ergebnisse im zweiten Versuchsabschnitt nicht zu reproduzieren. Durch die hohen Streuungen und auch die geringe Zahl der einzeln ausgewählten Tiere, welche in diese Untersuchung eingingen, konnte ein Toxineffekt nicht abgesichert werden.

Es muß aber auch berücksichtigt werden, dass MADAJ und Mitarbeiter NIV verwendeten, welches nahezu unverändert wieder via Fäces ausgeschieden wurde. Weder im Plasma noch im Urin konnte NIV oder Metaboliten gefunden werden. Hierin besteht der wesentliche Unterschied in der Pharmakokinetik von NIV und DON. DON wird, im Gegensatz zu NIV, nach einer sehr schnellen und vollständigen Resorption aus dem Magen (evt. oberer Darmabschnitt), primär und unverändert über den Harn ausgeschieden (PRELUSKY et al.; 1988, HEDMANN; 1996).

Nach der oralen Aufnahme ist DON unverändert sowohl im Serum, als auch in Leber, in Galle und Urin nachweisbar. Die Gehalte in den Sekreten korrelierten mit der aufgenommenen Toxinmenge. Lediglich im Urin konnten geringe Mengen DOM-1 gefunden werden. (DÖLL et al.; 2003, DÄNICKE et al.; 2008b).

Naheliegend ist, dass die Einwirkung von DON, aufgrund der äußerst schnellen Resorption aus Magen und Duodenum, auf die mukosalen Zellen des Darmes geringer ist und damit verbunden direkte Änderungen im Zellstoffwechsel ebenfalls eher moderat ausfallen. Vor allem der zweite Versuchsabschnitt zeigte allerdings, dass keine eindeutige Korrelation zwischen Toxin und Enzymaktivitätsänderung aufgestellt werden kann.

In neueren Studien wurde demgegenüber die Beeinflussung der Glucoseaufnahme der Enterozyten beim Schwein untersucht. Eine DON-bedingte Proteinbiosynthese-Hemmung betrifft in erster Linie Gewebe mit einer hohen Proteinsyntheserate (Darm). Eine Beeinträchtigung des enteralen Glucosetransporters und damit eine verminderte Glucosebereitstellung im Organismus wäre denkbar. Jedoch konnte diese Annahme im Tierversuch nicht belegt werden (ZERULL et al.; 2005).

Es ist durchaus möglich, dass nicht primär eine toxinbedingte Beeinträchtigung der Enzymsysteme des Darmes für die Veränderung verantwortlich zeichnet, sondern es sich vielmehr um eine Folge der verminderten Futteraufnahme und daher um eine sekundär eintretende Veränderung handelt. Um diesen Sachverhalt genauer verifizieren zu können müßten die Untersuchungen in pairfed-Studien wiederholt werden.

#### 6.4.4 Histologie

Die beobachteten histologischen Veränderungen im Verdauungstrakt konnten nicht zweifelsfrei mit der Toxingabe korreliert werden. Es ist jedoch zu beachten, daß bei histologischen Untersuchungen immer nur ein kleiner Ausschnitt des untersuchten Organs beurteilt werden kann. Um Aussagen zur Konstitution des Gesamtorganismus treffen zu können, müssen grundsätzlich weitere Befunde mit einbezogen werden.

Sämtliche in der Literatur angeführten Angaben zu histologischen Untersuchungen bezüglich einer DON-bedingten Gewebeschädigung erscheinen mehr oder weniger unbefriedigend. Oftmals wurde, aufgrund des Fehlens einer makroskopisch offensichtlichen Schädigung gänzlich auf eine histologische Untersuchung verzichtet (TRENHOLM et al.; 1994, ROTTER et al.; 1994, PRELUSKY et al.; 1994b).

Andere Angaben beziehen sich auf Versuche mit extrem hohen Dosierungen, die darüber hinaus zwangsverabreicht wurden. Mit Ausnahme von Veränderungen im Bereich des Magens konnte auch hier kein Zusammenhang mit der Toxingabe aufgezeigt bzw. es konnten Schäden durch die Behandlung selbst (Sondenfütterung) nicht ausgeschlossen werden (ARNOLD et al.; 1986, FORSELL et al.; 1987).

Berücksichtigt man allerdings neuere Studien, so müssen die Ergebnisse bisheriger Untersuchungen unter Umständen etwas anders betrachtet werden. In Studien, die sich mit der gleichzeitigen Verabreichung von Trichothecen und LPS befassen, erkannte man, dass es unter LPS-Einfluß zu einer Toxizitätssteigerung von Trichothecen, insbesondere DON kommt.

Betrachtet man mögliche Quellen für eine Endotoxineinwirkung, so tritt neben harmlosen Infektionen des Respirationstraktes (Erkältungskrankheiten) mit gramnegativen Bakterien auch die Darmflora in den Vordergrund. So läßt sich zum Beispiel durch gleichzeitige Gabe von *Salmonella typhimurium*-LPS und DON (i.p., p.o.) die toxische Wirkung des Mykotoxins verstärken (ZHOU et al.; 2000).

Eine wichtige Rolle scheinen hierbei moderate Entzündungsreaktionen durch "low-dose" LPS im Wirt zu spielen, welche zwar noch nicht zur Erkrankung führen, aber dennoch in der Lage sein könnten, die toxische Wirkung anderer Substanzen (chemische, toxische) zu potenzieren (ZHOU et al.; 2000). Diese bedeutende Komponente (Entzündungsgeschehen im Wirt) ist zwar noch wenig untersucht, verspricht möglicherweise aber eine Antwort auf die Frage nach unterschiedlichen Empfindlichkeiten gegenüber der toxischen Wirkung von DON. Die Translokation gramnegativer Bakterien aus dem Darm sind bei vorgeschädigter Darmbarriere (trichotheceninduzierte Apoptose, Entzündung der Mukosa-/Becherzellen, Darmverletzung) keine Seltenheit. Auch Krankheiten der Leber, Ernährungsumstellungen oder Alkoholabusus können eine Infektion mit gramnegativen Bakterien aus dem Intestinum fördern (PESTKA et BONDY; 2000, ZHOU et al.; 2000).

Somit scheint die DON-bedingte Schädigung von Geweben, ähnlich der Effekte auf die Leistung, nicht ausschließlich von der Toxinexposition, sondern auch vom Einfluß weiterer potenzierender Faktoren abhängig zu sein.

Um wirklich sichere Aussagen bezüglich der gewebeschädigenden Wirkung von DON in vivo treffen zu können, müßte - trotz hohen Zeit- und Kostenaufwandes - eine deutlich größere Tier- und Probenzahl einer ausführlichen histologischen Untersuchung zugeführt werden.

### **6.5 Festlegung eines Grenzwertes für DON**

Betrachtet man Untersuchungen mit Toxinkonzentrationen gerade im Bereich des damaligen Richtwerts von 0,9 mg DON/kg Futter und darunter, so wird deutlich, dass kein sicherer Zusammenhang zwischen auftretender Verzehrdepression und Kontaminationsgrad besteht. Veränderungen der Futteraufnahme variieren hier zwischen einer Verminderung der Futteraufnahme um 15% bis hin zu einer um 5% gesteigerten Futteraufnahme.

Ferner unterliegen die im Blut messbaren Toxinmengen, die zu den jeweils kritischen Konzentrationen im Futter gehören, starken tierindividuellen Variationen (GOYARTS et al.; 2005, DÄNICKE et al.; 2008b). Dieser Sachverhalt deutet daraufhin, dass weitere Faktoren genau auf diese kritische Konzentration von DON im Futter Einfluß nehmen können.

Die grundsätzliche Gefährdung des Menschen gab Anlass zur Festlegung von vorläufigen Grenzwerten für die tägliche Aufnahme der Toxine (TDI = Tolerable Daily Intake) durch die Europäische Kommission für Gesundheit und Verbraucherschutz (SCF; 2002). Die tatsächlich Exposition des Verbrauchers, sowie die Möglichkeiten zur technologischen Beeinflussung, stand im Fokus eines komplexen mehrjährigen Forschungsverbundes über die Jahre 2001-2004 (CURTUI et al.; 2005). Hierbei konnte konstatiert werden, dass die mittlere Aufnahme von DON beim Erwachsenen im Mittel unterhalb der derzeitigen Toleranz von 1µg/kg TDI liegt. Allerdings ist dieses Maximum bei Kindern recht schnell ausgeschöpft, erst recht bei Annahme eines sogenannten „bad case scenario“.

Aus den bislang erhobenen Daten ist bekannt, dass es sich bei DON um eine gefährliche Substanz handelt, deren Auftreten und damit auch eine Kontamination von Lebensmitteln, nahezu unvermeidlich ist (ENGELHARDT; 2008). Jedoch kann das tatsächliche Gefährdungspotential, gerade im unteren Dosisbereich, noch immer nicht ausreichend abgeschätzt werden. Die uneinheitlichen Ergebnisse aus Versuchen mit natürlich kontaminiertem Getreiden und der reinen Substanz zeigen ein sehr komplexes Muster auf. Aber auch im Hinblick auf die Beteiligung weiterer toxischer Faktoren bleibt im natürlich kontaminierten Material DON als Indikatorsubstanz diskussionswürdig (CURTUI et al.; 2005, EFSA, 2004a & b).

Für die Festlegung eines Grenzwerts ist die Datenlage, auch nach vielen Untersuchungen und Versuchen, eigentlich immer noch nicht ausreichend. Gerade wegen der ungenügenden Beziehung von Belastung, klinischen Parametern (inkl. Leistungseinbußen) und Toxinkonzentration in physiologischen Substraten bleibt eine realistische Einschätzung unmöglich, solange die entscheidenden Begleitfaktoren bzw. Mechanismen unbekannt sind (DÄNICKE et al.; 2008b).

Ungeachtet dessen gelten seit 2007 die von der EU-Kommission vorgegebenen Bestimmungen zur Festlegung der Höchtmengen bestimmter Kontaminanten in Lebensmitteln, in der unter anderem Grenzwerte für DON festgelegt sind (Tabelle 25).

**Tabelle 25** Auszug aus der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln (EUROPÄISCHE KOMMISSION, 2006)

<b>Höchstwerte für Deoxynivalenol in Lebensmitteln wie</b>	<b>in µg/kg</b>
Andere unverarbeitete Getreide als Hartweizen, Hafer und Mais	1 250
Unverarbeiteter Hartweizen und Hafer	1 750
Unverarbeiteter Mais	1 750
Getreidebeikost und andere Beikost für Säuglinge und Kleinkinder	750
Teigwaren (trocken)	750
Brot (einschließlich Kleingebäck), feine Backwaren, Kekse, Getreide-Snacks und Frühstückscerealien	500
Getreidebeikost und andere Beikost für Säuglinge und Kleinkinder	200

## 6.6 Abschließende Schlußfolgerungen

Zusammenfassend zeigt die vorliegende Untersuchung auf, dass sich aufgrund einer DON-Kontamination nicht konkret auf toxische Effekte schließen läßt und sich bei der genaueren Erforschung dieses Sachverhalts unvermeidlich Schwierigkeiten ergeben.

Die labortechnischen Gewinnung von Deoxynivalenol mittels Reiskulturen gestaltet sich mitunter komplex. So verlieren auf nährstoffreichen Medien kultivierte Pilzstämme mit fortschreitender Lagerdauer ihre Fähigkeit zur Bildung großer Toxinmengen. Ein ähnlicher Effekt wird bei andauernder Überimpfung desselben Isolates beobachtet.

Die Kultivierung als solche scheint nicht standardisierbar, was sich aus teilweise erheblich voneinander abweichenden Toxinbildungsraten in Abhängigkeit der Charge ableitet. Nicht zuletzt aus diesem Grund ist die Isolierung großer Mengen 3-ADON (DON) aus Reiskulturen von *Fusarium graminearum* nach wie vor mit einem erheblichem Arbeits- und Zeitaufwand verbunden. Dieser scheint jedoch aufgrund der erzielbaren Ausbeute und des nach wie vor hohen Preises für beide Toxine gerechtfertigt.

Für die Beurteilung der Gesamtoxizität eines Futtermittels werden oftmals Zellkulturtests angewendet. Wie in den vorliegenden Untersuchungen gezeigt, können toxinbedingte Effekte jedoch durch diverse Matrixeinflüsse überlagert werden. D.h. aus *in vitro*-Verfahren abgeleitete "relative Toxizitäten" gelten streng genommen nur für ein und diesselbe Matrix. Ein Vergleich unterschiedlicher Futtermischungen scheint demgegenüber nicht möglich.

Während bei Untersuchungen mit Zellkulturen eindeutige Dosis-Wirkungs-Beziehungen aufgestellt werden können, scheint dies *in vivo* nicht realisierbar zu sein. DON wirkt in Abhängigkeit seiner "Umgebung" u./o. ist in seiner Wirkung durch weitere Faktoren beeinflusst. So scheint z. B. bereits ein restriktives Fütterungsregime einen Toxineffekt zu überdecken.

Aufgrund der "Unwirksamkeit" von bis zu 6000 µg DON<sub>rein</sub>/kg Futter in getreidefreier Diät kann DON nicht allein für beobachtete Leistungseinbußen verantwortlich gemacht werden. Weitere Faktoren, wie beispielsweise Toxin-Maskierung, Synergismen, Haltungs- und Umweltbedingungen, Fütterungsregime und Grundfutter sowie tierindividuelle Eigenschaften müssen in Betracht gezogen werden.

Ferner darf nicht außer Acht gelassen werden, dass immer noch unbekannte Substanzen zusätzlich an einer Wirkungspotenzierung beteiligt sein können. Bislang herrscht immer noch Unklarheit darüber, wodurch Symptome wie Inappetenz und Futterverweigerung, aus denen sich letztlich verminderte Zunahmen und Wachstum ergeben, tatsächlich verursacht werden. Eine direkte Einwirkung auf GIT kann nicht eindeutig belegt werden, ebenso auch nicht die indirekte Beeinflussung durch Hyperamminoacidämie. Nachweislich kommt es zu einer verstärkten serotoninen Antwort, jedoch kann eine direkte Rezeptorwirkung auch nicht bewiesen werden.

DON wirkt je nach Konzentration und Aufnahmemodus immunmodulierend durch Beeinflussung der Interleukinproduktion und damit der Serum-IgA-Gehalte. Die etiologische Bedeutung von DON hinsichtlich der Entstehung einer IgA-Nephropathie wird aus den beschriebenen Zusammenhängen ersichtlich. Inwieweit die natürliche Belastung der Lebens- und Futtermittel tatsächlich für die Entstehung von immunologisch bedingten Nierenveränderungen verantwortlich zeichnet ist bis heute völlig ungeklärt. Es ist offensichtlich, dass auf diesem Gebiet dringender Forschungsbedarf besteht.

Der festgestellten, deutlich reduzierten Transformationsfähigkeit von DON zu DOM-1 bei getreidefrei gefütterten Tieren liegen möglicherweise zwei Ursachen zugrunde. Zum einen wird die Fermentation im Magen-Darmtrakt in Abhängigkeit des Futtermittels (Weizen-Kartoffel) sicherlich unterschiedlich beeinflusst. Zum anderen könnte das zudotierte, also leichter zugängliche Toxin bereits im Magen bzw. den oberen Darmabschnitten vollständig resorbiert worden sein. Trotzdem zeigten diese Tiere, im Gegensatz zu den mit Weizen gefütterten Schweinen, keinerlei Leistungseinbußen.

Die unterschiedliche Wirksamkeit von DON (natürlich/synthetisch) im Organismus scheint somit nach den vorliegenden Ergebnissen nicht durch ein unterschiedliches "Adaptationsverhalten" der Darmmikroflora erklärbar, vor allem auch, weil diese eher in den unteren Darmabschnitten - also zu spät - erfolgen .

Fusarinsäure scheint, zumindest im vorliegenden Fall, hinsichtlich eines synergistischen Effektes bei den mit Weizen gefütterten Tieren keine Rolle zu spielen. Da jedoch das Vorkommen einer Vielzahl weiterer toxischer Metaboliten in dem inokulierten Material möglich ist, können synergistische Wirkungen als solche nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden.

Die ursprüngliche Fragestellung, nämlich diejenige Konzentration an reinem DON zu ermitteln, die erste Leistungseinbußen beim Schwein bewirkt, konnte aufgrund der beschriebenen "Unwirksamkeit" des zudotierten DON (bis 6000 µg/kg) nicht geklärt werden. Klare Dosis-Wirkungsbeziehungen lassen sich somit auch über eine definierte orale Gabe von reinem DON nicht aufstellen, da neben der Toxinkonzentration möglicherweise weitere Faktoren die Leistungsentwicklung mit beeinflussen. Dies würde unabhängig von den verschiedenen, in der Literatur beschriebenen Versuchsansätzen, unterschiedliche Wirkungen bei gleicher Toxinkonzentration verständlich machen.

Durch die Verabreichung einer halbsynthetischen Ration und damit den Ausschluß einer potentiellen Fusarienkontamination einzelner Futterbestandteile konnte gezeigt werden, dass auftretende Toxineffekte nur unter Mitwirkung weiterer Faktoren entstehen können. Dies wirft die Frage nach dem eigentlichen Auslösemechanismus auf, denn im natürlich kontaminierten Material findet niemals nur die isolierte Produktion eines Stoffes statt. Vielmehr produzieren Mikroorganismen im Sekundärstoffwechsel einen ganzen Cocktail, deren einzelne Substanzen evt. noch gar nicht alle bekannt sind. Bedeutung hat dies v.a. im Hinblick auf die menschliche Gesundheit. Denn solange die relevanten Faktoren unbekannt bleiben, beruhen auch Grenzwerte auf unzureichenden Grundlagen und eine mögliche Langzeitwirkung auf den Menschen kann in keiner Weise eingeschätzt werden.

Zur Klärung eindeutiger Dosis-Wirkungsbeziehungen sind weitere umfassende Versuche erforderlich. Um aussagekräftige Daten zu erhalten bedarf es allerdings u.a. pair-fed-Gruppen, sehr hoher Tierzahlen, eines homogenen Tiermaterials, des Ausschlusses einer möglichen Vorbelastung (Elterntiere, Aufzucht) und geeigneter Methoden zur Probengewinnung (Katheter). Die hierfür notwendigen Versuchskonzepte sind extrem aufwändig, kostspielig sowie nur schwer mit dem Tierschutzgesetz vereinbar und daher in der Praxis kaum umzusetzen. Die endgültige Beurteilung einer Wirkung *in vivo*, ausgehend von unterschiedlichen DON-Konzentrationen im Futter, bedarf einer sukzessiven Aufklärung der hieran beteiligten Mechanismen.



Solange der Grund für die unterschiedliche Wirkung von DON aus verschiedenen Quellen nicht aufgeklärt ist, ist die Vorhersage bzw. Beurteilung einer Wirkung, aufgrund einer bestimmten im Futter vorliegenden Konzentration und damit eine Einschätzung des von DON ausgehenden Risikos, nicht möglich!

Um das Risiko DON-kontaminierter Futtermittel abschätzen zu können ist die weitere Aufklärung der unterschiedlichen Wirksamkeit von DON in Abhängigkeit der Herkunft unabdingbar. Dies umfasst insbesondere die Aufklärung der Stoffwechselwege, Studien hinsichtlich einer Resorption des Toxins in Abhängigkeit der Darreichungsform sowie des Ausscheidungsmodus. Voraussetzung hierfür ist die Aufklärung der *in vivo* zugrunde liegenden Wirkmechanismen, Schritt für Schritt unter definierten Bedingungen:

1. sukzessive Berücksichtigung einzelner Faktoren (u.a. Synergismen, Umwelt, Futter, Tiermaterial)
2. Wirkung auf das serotonerge System
3. Einflüsse nicht toxischer Inhaltsstoffe
4. mögliche Interaktionen zwischen verschiedenen Fusarientoxinen.

In der Praxis jedoch ist die Umsetzung der hierfür erforderlichen Versuche kaum möglich bzw. finanzierbar.

Inwieweit DON auch in den oberen Darmabschnitten transformiert wird, insbesondere ob diese Form der Entgiftung bei praxisüblichen niedrigen Konzentrationen über einen langen Zeitraum eine Rolle spielt, wäre Gegenstand weiterer wichtiger Folgeuntersuchungen.

Da Ergebnisse aus *in vitro*-Studien nicht ohne weiteres auf *in vivo*-Verhältnisse übertragbar sind, werden weitere Tierversuche, die detaillierter gestaltet werden müssen, unabdingbar. Gerade im Hinblick auf Grenzwertdiskussionen und hinsichtlich der Tatsache, dass es bislang praktisch nur Toxizitätsstudien bei der Maus gibt, die letztendlich den heute gültigen TDI-Wert begründen, sind - unabhängig von Zeit- und Kostenaufwand - Langzeitstudien mit anderen Spezies als der Maus dringend notwendig, um zu einer verlässlichen Einschätzung der Toxizität zu gelangen.

Will man die beim Menschen gegebene lebenslange Aufnahme geringer Mengen an DON in einen Tierversuch übertragen, so erfordert das eine besondere Versuchskonstruktion wie in etwa in Form eines Mehrgenerationenversuchs. Die in den Versuch eingehenden Ferkel müssten beispielsweise unter DON-Einwirkung groß werden und sich reproduzieren. Die Nachkommen aus diesen Tieren könnten dann auf eingetretene Schäden untersucht werden. Die Kosten eines solchen Versuchsverhabens wären kaum zu ermessen, da erheblich größere Toxinmengen erforderlich wären und darüber hinaus die Forderung nach standardisiertem Futter weiterhin aufrechterhalten werden muß.

Es läßt sich nachvollziehen, dass derartige Versuchsvorhaben aus Kostengründen, aufgrund des hohen Zeitbedarfs und letztlich auch aus ethischen Gründen nicht realisierbar sind. Aber letztendlich wäre nur so eine realistische Abschätzung darüber möglich, inwiefern der Mensch durch Mykotoxine wie DON gefährdet ist.

## 7 ZUSAMMENFASSUNG

In der Literatur finden sich zahlreiche widersprüchliche Angaben zur Wirkung des Mykotoxins Deoxynivalenol (DON) bei Schweinen, wobei meist für natürlich mit DON kontaminiertes Futter (DON<sub>nat</sub>) stärkere Wirkungen beobachtet wurden als für künstlich mit DON-Reinsubstanz kontaminiertes Futter (DON<sub>rein</sub>). In dieser Arbeit wurde der Einfluß von Deoxynivalenol (DON) auf die Entwicklung wachsender Schweine untersucht. Von besonderem Interesse war hierbei die Frage, inwieweit für natürlich kontaminiertes Futter beobachtete Wirkungen (DON<sub>nat</sub>) auch durch Verfütterung einer mit DON-Reintoxin künstlich kontaminierten, getreidefreien Futtermatrix (DON<sub>rein</sub>) reproduziert werden können. Hierzu wurden männliche Läuferschweine einerseits mit einer natürlich kontaminierten Getreideration und andererseits mit einer getreidefreien Ration auf Kartoffelbasis unter Zusatz von Reintoxin gefüttert.

Aufgrund der baulichen Gegebenheiten sowie der tierschutzrechtlichen Bestimmungen, wurde das Projekt in Teilabschnitten umgesetzt. Neben den Leistungsparametern Futteraufnahme und Gewichtsentwicklung wurden ferner Parameter wie Blut, Darmenzymatik, Gewebeveränderungen und DON-Metabolisierung im Kot untersucht.

Zur Abschätzung der erforderlichen Toxingehalte für ein sicheres Auftreten eines Toxineffektes wurden in einem Vorversuch (Durchgang A) jeweils 5 Tiere parallel mit 2000 mg/kg und 4000 mg/kg DON<sub>nat</sub> bzw. DON<sub>rein</sub> belastet. Das Fütterungsregime entsprach einer restriktiven Futtervorlage, welche so bemessen war, dass sie einer *ad libitum*-Fütterung entsprechen sollte. Zu jeder Belastungsgruppe in jeder Futtervariante wurde eine Kontrollgruppe mitgeführt.

Die Ergebnisse aus dem ersten Durchgang (A) zeigten lediglich Trends hinsichtlich einer möglichen Toxinwirkung auf. Insbesondere Tiere der natürlichen Belastungsgruppe wiesen Gewichtseinbußen auf. Demgegenüber waren in der Gruppe DON<sub>rein</sub>, trotz der hohen Toxinbelastung, keine Unterschiede der Leistungsparameter festzustellen.

In einem zweiten Durchgang (B) wurde daraufhin jeweils 5 Tieren ausschließlich eine kontaminierte Weizenration mit einer DON-Belastung von 4000 mg/kg und 6000 mg/kg verabreicht, und im Anschluß daran in einem dritten Durchgang (C) wiederum jeweils 5 Tiere ausschließlich mit DON<sub>rein</sub> in Höhe von 4000 mg/kg und 6000 mg/kg in einer getreidefreien Futtermatrix belastet. Auch das Fütterungsregime wurde in diesen beiden Abschnitten an eine *ad libitum*-Fütterung adaptiert.

Das variierte Versuchsverfahren in Durchgang B ließ signifikante Unterschiede in Gewichtsentwicklung und Futteraufnahme der Tiere erkennen, im gleichermaßen gestalteten Durchgang C konnte jedoch kein Einfluß des zugesetzten reinen DON in der getreidefreien Diät abgeleitet werden.

Die Untersuchung der Blutparameter lieferte keinen Anhaltspunkt auf einen systemischen Toxineffekt. Veränderungen einzelner Parameter traten sporadisch und inkonstant auf. Die Thyroxingehalte stiegen nur in der Versuchsgruppe mit reinem Toxin regelmäßig in den Durchgängen A und C gegen Versuchsende an. In den Durchgängen A und B lagen die T4-Werte der getreidehaltig gefütterten Gruppen deutlich höher, als die der getreidefrei gefütterten Tiere, was allerdings der Diät zuzuschreiben war.

In Versuchsdurchgang B fiel der Blut-Triglyceridgehalt mit einem signifikanten Anstieg auf, allerdings nur in der mittleren Belastungsgruppe 4000 mg/kg DON<sub>rein</sub>. Dagegen konnte in diesem Abschnitt ein signifikanter SDH-Anstieg in der Gruppe DON<sub>nat</sub> gefunden werden.

Bezüglich der IgA-Gehalte im Serum waren zwischen den Behandlungen keine Unterschiede zu erkennen. Mit zunehmendem DON-Gehalt im Futter ließ sich lediglich ein Trend zu höheren IgA-Gehalten feststellen, der bei Verabreichung von DON<sub>nat</sub> deutlich ausgeprägter erschien.

Die Fähigkeit der Darmmikroflora (aus dem Rektum), DON zu dem Metaboliten Deepoxy-Deoxynivalenol (DOM-1) zu transformieren war sowohl von der Darreichungsform und der Toxinmenge als auch vom Fütterungsregime abhängig. Der Anteil transformierender Mikroorganismen im Kot nahm unabhängig von der Darreichungsform mit steigender Toxinkonzentration im Futter zu. Bei den Kontrolltieren dagegen war kein einheitliches Muster abzuleiten.

Ein Einfluß des Toxins auf den Proteingehalt der Darmmukosa sowie der ALT- und  $\alpha$ -KGDH-Aktivität der Enterozyten war nicht eindeutig zu bestimmen.

Histologisch ließen sich vereinzelt deutlich Veränderungen der Mukosa von Magen und Darm finden, allerdings traten diese Veränderungen ebenfalls unabhängig von der Behandlung auf.

Diese Arbeit zeigt den grundsätzlichen Unterschied bezüglich der Effekte von DON als Reinsubstanz und als natürlich gebildetes Toxin in kontaminiertem Getreide auf. Die bislang festgestellten toxischen Wirkungen von DON sind allein durch Verabreichung der Reinsubstanz ohne natürliche Matrix nicht reproduzierbar. Das heißt, dass im natürlich kontaminierten Futter ein oder mehrere andere toxische Agentien zu den Vergiftungssymptomen beitragen oder diese sogar ausschließlich verursachen. Andererseits ist bei Vergiftungsfällen in der Praxis immer auch DON in entsprechenden Mengen nachzuweisen, DON könnte somit als Leitsubstanz benannt werden. Um die Zusammenhänge und auch um eine sichere Einschätzung der Gefährdung durch diese Substanz gewährleisten zu können, sind hierzu weitere Untersuchung erforderlich. Aber sowohl hinsichtlich der Kosten und des Aufwandes als auch unter Tierschutzaspekten sind die aufzustellenden Versuchskonzepte nur sehr schwer umsetzbar.

## 8 SUMMARY

Publications show a considerable amount of inconsistent information for effects of mycotoxin deoxynivalenol in pigs. Naturally contaminated feeds (DON<sub>nat</sub>) seem to cause more severe effects than pure DON in artificially contaminated feed (DON<sub>pure</sub>).

This study examined the development of growing pigs under DON-influence. Most interestingly was the question, whether effects of DON-contaminated feed (DON<sub>nat</sub>) could be replicated using a grainless diet containing pure DON (DON<sub>pure</sub>). Therefore a group of male pigs were fed a diet containing naturally contaminated wheat and compared to another group fed a grainless diet based on potato supplemented with DON<sub>pure</sub>.

Due to the building capacity and for reasons of animal welfare, the project had to be divided in several parts. Beside the performance parameters feed intake and weight development other parameters (blood, intestinal enzymes, tissue alterations and DON-metabolisation in feces) were examined.

To estimate the required DON dose to provide certain toxic effects a preceding study (Part A) was drawn consisting of 4 groups with 5 animals each. The treatment was both naturally contaminated wheat diet and pure DON in grainless potato diet. The contents in both diets were 2000 mg/kg and 4000 mg/kg DON<sub>nat</sub> respectively DON<sub>pure</sub>. The amount of food was calculated corresponding to ad libitum feeding. Every treatment group was compared to a control group.

The results of Part A only showed slight trends concerning a possible toxic effect. Especially the naturally contaminated group demonstrated weight loss. In contrast, there was no evidence of any toxic effect in the DON<sub>pure</sub> –group concerning performance.

In a second study (Part B) 3 groups comprising 5 animals each received wheat diet, exclusively, containing 4000 mg/kg and 6000 mg/kg DON<sub>nat</sub> and control group, followed by Part C, altered by feeding grainless potato diet with corresponding amounts of DON<sub>pure</sub>. Also the feeding regime was changed to a real ad libitum feeding.

The trial variation in Part B showed significant differences in weight gain and feed intake. These were not reproducible in Part C, no effect of admitted DON<sub>pure</sub> in grainless diet was derived.

The examination of blood parameters gave no evidence of a systemic toxic effect. Alterations of single parameters were inconstant and intermittent. Only the thyroxin levels increased in the grainless group during Parts A and C at the end of each trial. In Part A and B the levels in the wheat diet groups increased, indicating an effect of the diet.

In Part B, the blood triglycerides showed a significant rise, but only in the group with medium exposure of pure DON (4000 mg DON<sub>pure</sub>/kg). In contrast, a significant rise of SDH contents was found in the contaminated wheat diet group (DON<sub>nat</sub>).

Regarding the serum IgA-levels no differences between the treatments could be diagnosed. With higher DON-levels in food a distinct trend to higher IgA-levels, esp. in the naturally contaminated group (DON<sub>nat</sub>), could be assessed.

The ability of Intestinal flora (rectum) for DON-degradation (DOM-1) depended on both, sort of food (ingredients) and dosage and also the feeding regime. The fraction of transforming microorganisms in faeces rose with increasing toxin contents independent of diet. In contrast, the control animals showed no consistent pattern.

The influence of protein content of intestinal mucosa and activity of ALT and  $\alpha$ -KGDH in enterocytes could not be identified clearly.

Several mucosal variations of stomach and intestine were determined in histological examination. These changes also appeared independent of treatment.

This study showed basic differences of pure DON and DON from a naturally contaminated source, referring to toxic effects. Only pure DON without natural material cannot bring out any toxic effect, which was described up to now. That means, there must be one or more further agents in naturally contaminated material, supporting or just releasing an intoxication. On the other hand, in cases of intoxication DON is detected regularly. Therefore the conclusion for DON as leading substance may be established. For connections and a reliable estimation of the risks through this substance, further examinations are necessary. But expenses, complexity and also animal welfare reasons make the realisation of required trials very difficult.

## 9 LITERATURVERZEICHNIS

- Abbas, H.K.; Mirocha, C.J.; Gunther, R. (1989) Mycotoxins produced by toxic *Fusarium* isolates obtained from agricultural areas (arctic) of Norway. *Mycopathologia* **105**, 143-151
- Altpeter, F.; Posselt, U.K. (1994) Production of high quantities of 3-Acetyl-Deoxynivalenol and Deoxynivalenol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **41**, 384-387
- Arnold, D.L.; McGuire, P.F.; Nera, E.A.; Karpinski, K.F.; Bickis, M.G.; Zawidzka, Z.Z.; Fernie, S.; Versonder, R.F. (1986) The Toxicity of orally administered Deoxynivalenol (Vomitoxin) in rats and mice. *Food Chem. Toxicol.* **24**, 935-941
- Banotai, C.; Greene-McDowelle, C.M.; Azcona-Olivera, J.I.; Pestka, J.J. (1999a) Effects of intermittent vomitoxin exposure on Body weight, Immunglobulin levels and haematuria in the B6C3F<sub>1</sub> mouse. *Food Chem. Toxicol.* **37**, 343-350
- Banotai, C.; Azcona-Olivera, J.I.; Greene-McDowelle, C.M.; Pestka, J.J. (1999b) Effects of vomitoxin ingestion on murine models for systemic lupus erythematosus. *Food Chem. Toxicol.* **37**, 533-543
- Bauer, J. (1995) Zum Metabolismus von Trichothecenem beim Schwein. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* **102**, 50-52
- Berger, J.; Hinglais, N. (1968) Les depots intracapillaires d'IgA-IgG. *J Urol. Nephrol.* **74**, 694-695
- Berger, J. (1969) IgA-glomerular deposits in renal tissue. *Transplant. Proc.* **1**, 939
- Bergsjø, B.; Matre, T.; Nafstad, I. (1992) Effect of diets with graded levels of deoxynivalenol on performance in growing pigs. *J. Vet. Med. A* **39**, 752-758
- Bergsjø, B.; Langseth, W.; Nafstad, I.; Hoegset Jansen, J.; Larsen, H.J.S. (1993) The effects of naturally contaminated oats on the clinical condition, blood parameters, performance and carcass composition of growing pigs. *Vet. Res. Com.* **17**, 283-294
- Berthiller, F.; Krska, R.; Lemmens, M.; Werner, U.; Hauser, M.-T.; Adam, G.; Schuhmacher, R. (2007) Short review: Metabolism of the *Fusarium* mycotoxins deoxynivalenol and zearalenone in plants. *Mycotoxin Res.* **23**(2), 68-72
- Berthiller, F., Schuhmacher, R., Krska, G. A. & R. (2009) Formation, determination and significance of masked and other conjugated mycotoxins. *Anal. Bioanal. Chem.* **395**(5), 1243-1252
- Binder, E.M.; Heidler, D.; Schatzmayr, G.; Thimm, N.; Fuchs, E.; Schuh, M.; Krska, R.; Binder, J. (2000) Microbial Detoxification of Mycotoxins in Animal Feed. The 16<sup>th</sup> international Pig Veterinary Society Congress, Melbourne, Australia, 17.-20.09.2000
- Böhm, J.; Razzazi, E (2003) Fütterungseinfluß von DON-belastetem Weizen bei Ferkeln. *Mycotoxin Res.* **19**
- Buske, B. (2000) Der modifizierte HFT (Hohenheimer Futterwerttest) zur Simulation der colonalen Fermentation beim Schwein. Diplomarbeit, Universität Hohenheim
- Casper, H.H.; Tacke, B.K.; Iverson, D.M. (2000) Experiences in mycotoxin testing. Proceedings of the 21. Western Nutrition Conference, 28.-29. Sept. 2000, Winnipeg, Manitoba
- Chavez, E.R. (1984) Vomitoxin-contaminated wheat in pig diets: Pregnant and lactating gilts and weaners. *Can. J. Anim. Sci.* **64**, 717-723
- Chavez, E.R.; Rheaume, J.A. (1986) The significance of the reduced feed consumption observed in growing pigs fed vomitoxin-contaminated diets. *Can. J. Anim. Sci.* **66**, 277-287

- Coppock, R.W.; Swanson, S.P.; Gelberg, H.B.; Koritz, G.D.; Hoffman, W.E.; Buck, W.B.; Versonder, R.F. (1985) Preliminary study of the pharmacokinetics and toxicopathy of deoxynivalenol (vomitoxin) in swine. *Am. J. Vet. Res.* **46**, 169-174
- Côté, L.M.; Reynolds, J.D.; Versonder, R.F.; Buck, W.B.; Swanson, F.P.; Coffey, R.T.; Brown, D.C. (1984) Survey of Vomitoxin-contaminated feed-grains in midwestern United States and associated health problems in swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **184**, 189-192
- Côté, L.M.; Dahlem, A.M.; Yoshizawa, I.; Swanson, F.P.; Buck, W.B. (1986) Excretion of deoxynivalenol and its metabolite in milk, urine, and feces of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* **69**, 2416-2423
- Curtui, V.; Brockmeyer, A.; Dietrich, R.; Kappenstein, O.; Klaffke, H.; Lepschy, J.; Märklbauer, E.; Usleber, E.; Schneider, E.; Seidler, C.; Thielert, G.; Weber, R.; Wolff, J. (2005) Verbundforschungsprojekt 00HS 055 Analytik und Vorkommen wichtiger Fusariumtoxine (Deoxynivalenol, Zearalenon) sowie Aufnahme dieser Toxine durch den deutschen Verbraucher, Abschlussbericht [download.ble.de/00HS055.pdf](http://download.ble.de/00HS055.pdf) 03/2010
- Dänicke, S.; Valenta, H. (1999) Mykotoxine im Futter – Gefahr für landwirtschaftliche Nutztiere? Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Institut für Tierernährung, Braunschweig. <http://www.verbraucherministerium.de/forschungsreport/rep2-99/futter.htm>
- Dänicke, S.; Valenta, H.; Döll, S. (2000) Zum Einfluß steigender Konzentrationen an Deoxynivalenol aus natürlich kontaminiertem Weizen auf die Mastleistung von Schweinen. 6. Tagung Schweine und Geflügelernährung, 21.-23. Nov. 2000, Wittenberg, Inst. f. Ernährungsw., 267-269
- Dänicke, S.; Valenta, H.; Döll, S. (2003) On the Toxicokinetics and the Metabolism of Deoxynivalenol in the Pig. Proc. 25 Mykotoxin-Workshop, Gießen, V 11
- Dänicke, S.; Valenta, H.; Gareis, M.; Lucht, H.W.; von Reichenbach, H. (2005) On the effects of a hydrothermal treatment of deoxynivalenol (DON)-contaminated wheat in the presence of sodium metabisulphite ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) on DON reduction and on piglet performance. *Anim. Feed Sci. Technol.* **118**, 93-108
- Dänicke, S.; Beineke, A.; Goyarts, T.; Valenta, H.; Beyer, M.; Humpf, H.U. (2008a) Effects of a Fusarium toxin-contaminated triticale, either untreated or treated with sodium metabisulphite ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ , SBS), on weaned piglets with a special focus on liver function as determined by the  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test. *Arch. Anim. Nutr.* **62**, 263-286
- Dänicke, S.; Döll, S.; Goyarts, T.; Valenta, H.; Ueberschär, K.H.; Flachowsky, G. (2008b) Zur Beurteilung des Vorkommens der *Fusarium*-Toxine Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZON) sowie ihrer Metaboliten in physiologischen Substraten des Schweins. *Tierärztl. Prax* **36**, 35-47
- Diekman, M.A.; Green, M.L. (1992) Mycotoxins and reproduction in domestic livestock. *J. Anim. Sci.* **70**(5), 1615-1627
- D'Mello, J. P. F.; Placinta, C. M.; Macdonald, A. M. C. (1999) Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **80**, 183-205
- Döll, S.; Dänicke, S.; Ueberschär, K.-H.; Valenta, H.; Flachowsky, G. (2003) *Fusarium* Toxin Residues in Physiological Samples of Piglets. *Mycotoxin Res.* **19**
- Döll, S.; Goyarts, T.; Rothkötter, H. J.; Dänicke, S. (2006) Effects of deoxynivalenol on immunohistological parameters in pigs. *Mycotoxin Res.* **22** (3), 178-182
- Dong, W.; Sell, J.E.; Pestka, J.J. (1991) Quantitative Assessment of mesangial immunoglobulin A (IgA) accumulation, elevated circulating IgA immune complexes, and hematuria during vomitoxin-induced IgA nephropathy. *Fund. Appl. Toxicol.* **17**, 197-207

- Dong, W.; Ascona-Olivera, J.I.; Brooks, K.H.; Linz, J.E.; Pestka, J.J. (1994) Elevated Gene Expression and production of interleukins 2, 4, 5, and 6 during exposure to vomitoxin (deoxynivalenol) and cycloheximide in the EL-4 thymoma. *Toxicol. Appl. Pharm.* **127**, 282-290
- Drochner, W.; Lauber, U. (2001) Occurrence of the three important *Fusarium*-toxins Deoxynivalenol, Nivalenol and Zearalenone in grains in Central Europe and effects in farm animals. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* **10**, 161-166
- Drochner, W.; Schollenberger, M.; Piepho, H.-P.; Götz, S.; Lauber, U.; Tafai, M.; Klobasa, F.; Weiler, U.; Claus, R.; Steffl, M. (2004) Serum IgA-Promoting Effect induced by feed loads containing isolated Deoxynivalenol (DON) in growing piglets. *J. Toxicol. Environ. Health, Part A*, **67**, 1051-1067
- Dufner, J.; Jensen, U.; Schumacher, E. (1992) Gütefunktion und Wahl des Stichprobenumfangs. *Statistik mit SAS*, Teubner-Verlag, Stuttgart
- EFSA, (2004a) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Deoxynivalenol (DON) as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal* **73**, 1–41 (available at: <http://www.efsa.eu.int/>).
- EFSA, (2004b). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Zearalenone as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal* **89**, 1–35 (available at: <http://www.efsa.eu.int/>).
- Ehling, G.; Cockburn, A.; Snowdon, P.; Buschhaus, H. (1997) The significance of the *fusarium* toxin deoxynivalenol (DON) for human and animal health. *AgrEvo UK Limited*
- Ellner, F.M. (2000) Occurrence of *Fusarium* toxins in the 1999's harvest. *Mycotoxin Res.* **16**, Suppl. 1, 21-25
- Ellner, F.M. (2002) Mycotoxins in Potato Tubers infected by *Fusarium sambucinum*. *Mycotoxin Res.* **18**, 57-61
- Engelhardt, G. (1999) Mykotoxine – Giftige Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen. Bayerische Landesanstalt für Ernährung; [www.lfe.bayern.de/lebensmittel/mykotox/html](http://www.lfe.bayern.de/lebensmittel/mykotox/html)
- Engelhardt, G. (2008) [http://www.vis.bayern.de/ernaehrung/lebensmittelsicherheit/unerwunschte\\_stoffe/mykotoxine.htm#was](http://www.vis.bayern.de/ernaehrung/lebensmittelsicherheit/unerwunschte_stoffe/mykotoxine.htm#was), letzte Aktualisierung 2.9.2008
- Eriksen, G.S.; Alexander, J. (1998) *Fusarium* Toxins in cereals - a risk assessment. TemaNord 1998:502. Nordic Council of Ministers. Copenhagen, Denmark.
- Eriksen, G.S. (2003) Metabolism and Toxicity of Trichothecenes. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala
- Europäische Kommission (2006) Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 der Kommission vom 19. Dezember 2003 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln. ABl. L 364 vom 20.12.2006, S. 5–24
- FAO (2001) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 56. Meeting, 6.-15.2.2001 in Genf
- Fink-Gremmels, Johanna (1999) Mycotoxins: Their Implications for human and animal health. *Vet. Quart.* **21**, 115-120
- Fitzpatrick, D.W.; Boyd, K.E.; Watts, B.M. (1988) Comparison of the trichothecenes deoxynivalenol and T-2 toxin for their effects on brain biogenic monoamines in the rat. *Tox. Letters* **40**, 241-245
- Forsell, J.H.; Witt, M.; Tai, J.H.; Jensen, R.; Pestka, J.J. (1986) Effects of chronic exposure to dietary deoxynivalenol (vomitoxin) and zearalenone on growing B6C3F1 mouse. *Food Chem. Toxicol.* **24**, 213-219



- Forsell, J.H.; Jensen, R.; Tai, J.H.; Witt, M.; Lin, W.S.; Pestka, J.J. (1987) Comparison of acute toxicities of deoxynivalenol (vomitoxin) and 15-acetyldeoxynivalenol in the B6C3F1 mouse. *Food Chem. Toxicol.* **25**(2), 155-162
- Forsyth, D.M.; Yoshizawa, T.; Mordka, N.; Tuite, J. (1977) Emetic and refusal activity of deoxynivalenol in swine. *Appl. Environ. Microbiol.* **34**, 547-552
- Forth, W.; Henschler, D.; Rummel, W.; Starke, K. (1992) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, BI Wissenschaftsverlag, Mannheim
- Foster, B.C.; Trenholm, H.L.; Friend, D.W.; Thompson, B.K.; Hartin, K.E. (1986) Evaluation of different sources of deoxynivalenol (vomitoxin) fed to swine. *Can. J. Anim. Sci.* **66**, 1149-1154
- Foster, B. C.; Trenholm, H.L.; Friend, D.W. (1987). The effect of a propionate feed preservative in deoxynivalenol (Vomitoxin) containing corn diets fed to swine. *Can. J. Anim. Sci.* **67**, 1159.
- Friend, D.W.; Trenholm, H.L.; Elliot, J.I.; Thompson, B.K.; Hartin, K.E. (1982) Effect of feeding vomitoxin-contaminated wheat to pigs. *Can. J. Anim. Sci.* **62**, 1211-1222
- Friend, D.W.; Trenholm, H.L.; Fiser, P.S.; Thompson, B.K.; Hartin, K.E. (1983) Effect on dam performance and fetal development of deoxynivalenol (vomitoxin) contaminated wheat in the diet of pregnant gilts. *Can. J. Anim. Sci.* **63**, 689-698
- Friend, D.W.; Trenholm, H.L.; Young, J.C.; Thompson, B.K.; Hartin, K.E. (1984) Effect of adding potential vomitoxin (deoxynivalenol) detoxicants or a *F. graminearum* inoculated corn supplement to wheat diets fed to pigs. *Can. J. Anim. Sci.* **64**, 733-741
- Friend, D.W.; Thompson, B.K.; Trenholm, H.L.; Hartin, K.E.; Prelusky, D.B. (1986a) Effect of feeding diets containig deoxynivalenol (vomitoxin)-contaminated wheat or corn on the feed consumption, weight gain, organ weight, and sexual development of male and female pigs. *Can. J. Anim. Sci.* **66**, 765-775
- Friend, D.W.; Thompson, B.K.; Trenholm, H.L.; Prelusky, D.B.; Hartin, K.E. (1986b) Effect of deoxynivalenol (DON)-contaminated diet fed to growing-finishing pigs on their performance at market weight, nitrogen retention and DON excretion. *Can. J. Anim. Sci.* **66**, 1075-1085
- Friend, D.W.; Thompson, B.K.; Trenholm, H.L.; Boermans, H.J.; Hartin, K.E.; Panich, P.L. (1992) Toxicity of T-2 toxin and its interaction with deoxynivalenol when fed to young pigs. *Can. J. Anim. Sci.* **72**, 703-711
- Gareis, M (1994) Maskierte Mykotoxine. *Übersichten Tierernährung* **22**, 104-113
- Gareis, M (1999) Bundesanstalt für Fleischforschung, Institut für Mikrobiologie und Toxikologie, Kulmbach. <http://www.lfe.bayern.de/lebensmittel/mykotox/html> (2009)
- Gareis, M. (2006) Diagnostischer Zellkulturtest (MTT-Test) für den Nachweis von zytotoxischen Komponenten und Rückständen, *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* **1**, 354-363
- Gilgenberg-Hartung, A. (1999) Risiken durch Ährenfusariosen. *Informationsschrift der Fa. Cynamid Agrar, Schwabenheim*
- Goyarts, T.; Dänicke, S. (2005) Effects of deoxynivalenol (DON) on growth performance, nutrient digestibility and DON metabolism in pigs. *Mycotoxin Res.* **21** (2), 139-142
- Goyarts, T.; Dänicke, S.; Rothkötter, H.-J.; Spilke, J.; Tiemann, U.; Schollenberger, M. (2005b) On the effects of a chronic deoxynivalenol intoxication on performance, haematological and serum parameters of pigs when diets are offered either for ad libitum consumption or fed restrictively. *J Vet Med A* **52**, 305–314.
- Goyarts, T.; Dänicke, S. (2006) Bioavailability of the Fusarium toxin deoxynivalenol (DON) from naturally contaminated wheat for the pig. *Toxicol. Lett.* **163**, 171–182.

- Götz, S. (2003) Wirkung von reinem Deoxynivalenol in praxisrelevanten Konzentrationen an wachsenden Schweinen. Dissertation, Ludwig-Maximilian-Universität München
- Greene, D.M.; Bondy, G.S.; Azcona-Olivera, J.I.; Pestka, J.J. (1994) Role of gender and strain in vomitoxin-induced dysregulation of IgA-Production and IgA Nephropathy in the mouse. *J. Toxicol. Environ. Health* **43**, 37-50
- Harvey, R.B.; Erdington, T.S.; Kubena, L.F.; Elissalde, M.H.; Casper, H.H.; Rottinghaus, G.E.; Turk, J.R. (1996) Effects of dietary fumonisin B<sub>1</sub>-containing culture material, deoxynivalenol-contaminated wheat, or their combination in growing barrows. *Am. J. Vet. Res.* **57**(12), 1790-1794
- He, P.; Young, L.G.; Forsberg, C. (1992) Microbial transformation of deoxynivalenol (Vomitoxin). *Appl. Environ. Microbiology* **58**(12), 3857-3863
- He, P.; Young, L.G.; Forsberg, C. (1993) Microbially detoxified vomitoxin-contaminated corn for young pigs. *J. Anim. Sci.*, **71**(4) 963-967
- Hedman, R. (1996) Toxikology of Nivalenol in Farm Animals, and methods of its production and analysis. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala
- Hedman, R. und Pettersson, H. (1997) Transformation of Nivalenol by gastrointestinal microbes. *Arch. Anim. Nutr.* **50**, 321-329
- Hinoshita, F.; Suzuki, Y.; Yokoyama, K.; Hara, S.; Yamada, A.; Ogura, Y.; Hashimoto, H.; Tomura, S.; Marumo, F.; Ueno, Y. (1997) Experimenttal IgA-nephropathy induced by a low-dose environmental mycotoxin, Nivalenol. *Nephron* **75**(4), 469-478
- Jeroch, H.; Drochner, W.; Simon, O. (1999) Fütterung der Schweine. Aus Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere, 319-361, Ulmer Verlag, Stuttgart
- Kirchgeßner, M. (1997) Tierernährung, 10. Auflage. DLG-Verlag
- Klobasa, F.; Habe, F.; Werhahn, E. (1983) Immunglobulin-Konzentrationen im Blutserum von Sauen. *Lanbauforschung Völkenrode*, **33**(4), 243-250
- Klobasa, F. (1987) Methodische und gerätetechnologische Probleme und Erfahrungen bei der Anwendung immunologischer Verfahren in der Tierzuchtforschung. *Lanbauforschung Völkenrode*, **37**(1), 1-17
- Königs, M.; Schwerdt, G.; Gekle, M.; Humpf, H.-U. (2008) Effects of the mycotoxin Deoxynivalenol on human primary hepatocytes. *Mol. Nutr. Food Res.*, **52**, 830-839.
- Kollarczik, B; Gareis, M; Hanelt, M. (1994) In vitro transformation of the Fusarium mycotoxins Deoxynivalenol and Zearalenon by the normal gut microflora of pigs. *Nat. Toxin* **2**, 105-110
- Kraft, W. und Dürr, U.M. (1999) Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. 5. Auflage, Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart
- Kubena, L.F.; Erdington, T.S.; Harvey, R.B.; Buckley, S.A.; Phillips, T.D.; Rottinghaus, G.E.; Caspers, H.H. (1997a) Individual and combined effects of fumonisin B<sub>1</sub> present in *Fusarium moniliforme* culture material and T-2 toxin or deoxynivalenol in broiler chicks *Poultry Sci.* **76**, 1239-1247
- Lauber, U.; Schollenberger, M.; Götz-Schröm, S.; Müller, H.-M.; Drochner, W. (1997) Wirkung von reinem Deoxynivalenol bei Läuferschweinen. I. Gewinnung der benötigten Toxinmengen - Versuchsaufbau. In: Märtlbauer, E.; Usleber, E. (Hrsg.), *Proc. 19. Mykotoxin-Workshop*, 2.-4. Juni 1997, München, **62**
- Lepschy, J. (2001) Mykotoxine im Getreide. Bayrische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau, Freising. [www.lrz-muenschen/~GEB/lepschy.pdf](http://www.lrz-muenschen/~GEB/lepschy.pdf) (2009)
- Landesanstalt für Landwirtschaft Bayern (LfL) (2009) Ährenfusariosen im Weizen. Broschüre aus dem Institut für Pflanzenschutz. [www.LfL.bayern.de](http://www.LfL.bayern.de). 2. Auflage: September 2009

- Löscher, W.; Ungemach, F.R.; Kroker, R. (1994) Grundlagen der Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. 2. Auflage, Paul-Parey-Verlag
- Luhmann, F. (2006) Die Bedeutung der Mykotoxine als Lebensmittelkontaminanten. [www.lefa-berlin.de/downloads/Luhmann.pdf](http://www.lefa-berlin.de/downloads/Luhmann.pdf) 03/2010
- Lun, A.K.; Young, L.G.; Lumdsen, J.H. (1985) The effects of vomitoxin on feed intake on the performance and blood characteristics of young pigs. *J. Anim. Sci.* **61**, 1178-1185
- Madaj, M.; Lundh, T.; Lindberg, J. E. (1999) Effect of exposure to dietary Nivalenol on activity of enzymes involved in glutamine catabolism in the epithelium along the gastrointestinal tract of growing pigs. *Arch. Anim. Nutr.* **00**, 1-10
- Mancini, G.; Carbonara, O.A.; Heremans, J.J. (1965) Immunological quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* **2**, 235-254
- Meky, F.A.; Hardie, L.J.; Evans, S.W.; Wild, C.P. (2001) Deoxynivalenol-induced immunomodulation of human lymphocyte proliferation and cytokine production. *Food Chem. Toxicol.* **39**, 827-836
- Morooka, N.; Uratsuji, N.; Yoshizawa, T.; Yamamoto, H. (1972) Studies on the toxic substances in barley infected with *Fusarium* spp. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* **13**, 368-375
- Müller, H.-M.; Reimann, J.; Schumacher, U.; Schwadorf, K. (1997a) *Fusarium* toxins in wheat harvested during six years in an area of southwest Germany. *Nat. Toxins* **5**, 24-30
- Müller, H.-M.; Reimann, J.; Schumacher, U.; Schwadorf, K. (1997b) Natural occurrence of *Fusarium* toxins in barley harvested during five years in an area of southwest Germany. *Mycopathologia* **137**, 185-192
- Øvernes, G.; Matre, T.; Sivertsen, T.; Larsen, H.J.S.; Langseth, W.; Reitan, L.J.; Jansen, J.H. (1997) Effects of diets with graded levels of naturally deoxynivalenol-contaminated oats on immune response in growing pigs. *J. Vet. Med.* **A 44**, 539-550
- Patterson, R.; Young, L.G. (1993) Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicates, screening and dilution in reducing the effects of mold contaminated corn in pigs. *Can. J. Anim. Sci.* **73**, 615-624.
- Pestka, J.J.; Moorman, M.A.; Warner, R.L. (1989) Dysregulation of IgA production and dIgA nephropathy induced by the trichothecene vomitoxin. *Food Chem. Toxic.* **27**, 361-368
- Pestka, J.J.; Bondy, G.S. (1990) Alteration of immune function following dietary mycotoxin exposure. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **68**, 1009-1016
- Pestka, J.J.; Bondy, G.S. (2000) Immunomodulation by fungal toxins. *J. Toxicol. Environ. Health, Part B*, **3**, 109-143
- Placinta, C.M.; D'Mello, J.P.F.; Macdonald, A.M.C. (1999) A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Technol.* **78**, 21-37
- Plonait, H.; Bickhardt, K. (1997) Blutkrankheiten: Interpretation der Untersuchungsergebnisse aus Lehrbuch der Schweinekrankheiten, Kap. 9, 174-176
- Pollmann, D.S.; Koch, B.A.; Seitz, L.M.; Mohr, H.E.; Kennedy, G.A. (1985) Deoxynivalenol-contaminated wheat in swine diets. *J. Anim. Sci.* **60**, 239-247
- Prelusky, D.B.; Veira, D.M.; Trenholm, H.L.; Hartin, K.E. (1986b) Excretion profiles of the mycotoxin deoxynivalenol, following oral and intravenous administration to sheep. *Fundam. Appl. Toxicol.* **6**, 356-363
- Prelusky, D.B.; Trenholm, H.L.; Hamilton, R.M.G.; Miller, J.D. (1987) Transmission of <sup>14</sup>C-labeled deoxynivalenol to eggs following oral administration to laying hens. *J. Agric. Food Chem.* **35**, 182-186
- Prelusky, D.B.; Hartin, K.E.; Trenholm, H.L.; Miller, J.D. (1988) Pharmacokinetic fate of <sup>14</sup>C-labeled deoxynivalenol in swine. *Fundam. Appl. Toxicol.* **10**(2), 276-286

- Prelusky, D. (1993) The effect of low-level deoxynivalenol on neurotransmitter levels measured in pig cerebral spinal fluid. *J. Environ. Sci. Health* **B28**(6), 731-761
- Prelusky, D. und Trenholm, H.L. (1993) The efficacy of various classes of anti-emetics in preventing deoxynivalenol-induced vomiting in swine. *Nat. Toxins* **1**, 296-302
- Prelusky, D. (1994a) The effect of deoxynivalenol on serotonergic neurotransmitter levels in pig blood. *J. Environ. Sci. Health* **B26**(6), 1203-1218
- Prelusky, D.B.; Gerdes, R.G.; Underhill, K.L.; Rotter, B.A.; Joi, P.Y.; Trenholm, H.L. (1994b) Effects of low-level dietary deoxynivalenol on the haematological and clinical parameters of the pig. *Nat. Toxins* **2**, 97-104
- Prelusky, D. (1996) A study on the effect of deoxynivalenol on serotonin receptor binding in pig brain membranes. *J. Environ. Sci. Health* **B31**(5), 1103-1117
- Rafai, P.; Bata, A.; Vanyi, A.; Papp, Z.; Brydl, E.; Jakab, L.; Tuboly, S.; Tury, E. (1995) Effect of various levels of T-2 toxin on the clinical status, performance and metabolism of growing pigs. *Vet. Rec.* **136**, 485-489
- Rasooly, L.; Pestka, J.J. (1994) Polyclonal autoreactive IgA increase and mesangial deposition during vomitoxin-induced IgA nephropathy in BALB/c mouse. *Food Chem. Toxic.* **32**(4), 329-336
- Richter, W.I.F. (1989) Untersuchungen zum Einsatz von vomitoxinbelastetem Weizen in der Schweinemast. *Das wirtschaftseigene Futter* **35**, 126-136
- Richter, W.I.F.; Lepschy v. G.; Lindermayer, H.; Holzer, A.; Obst, A.; Gareis, M (1996) Behandlung von mit *Fusarium culmorum* infiziertem Winterweizen mit Konservierungstoffen. *Das wirtschaftseigene Futter* **42**, 143-160
- Rodemann, B. (1999) Mykotoxine im Getreide. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Braunschweig. <http://www.verbraucherministerium.de/forschungsreport/rep2-99/getreide.htm> (2009)
- Rotter, B.A.; Thompson, B.K.; Lessard, M.; Trenholm, H.L.; Tryphonas, H. (1994) Influence of low-level exposure to *Fusarium* mycotoxins on selected immunological and hematological parameters in young swine. *Fundam. Appl. Toxicol.* **23**, 117-124
- Rotter, B.A.; Thompson, B.K.; Lessard, M. (1995) Effects of deoxynivalenol-contaminated diet on performance and blood parameters in growing swine. *Can. J. Anim. Sci.* **75**, 297-302
- Rotter, B.A.; Prelusky, D.B.; Pestka, J.J. (1996) Toxicology of Deoxynivalenol (Vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. H.* **48**(1), 1-34
- Schätz K. (1982) Klinische, hämatologische und wirtschaftliche Auswirkungen verschiedener Konzentrationen von Desoxynivalenol (Vomitoxin) im Futter von Mastschweinen. Dissertation, Veterinärmedizinische Universität, Wien.
- Schlüter, K., Kropf, U., Karlovsky, P. (2006) Untersuchungen zur systemischen Infektion von *Fusarium culmorum* an Winterweizen in Schleswig-Holstein. **58**:107–116
- Schollenberger, M; Lauber, U; Terry, H; Suchy, S; Drochner, W; Müller H.-M. (1998) Determination of eight trichothecenes by gas chromatography mass spectrometry after sample clean-up by a two-stage solid-phase extraction. *J. Chrom.* **815**, 123-132
- Schollenberger, M.; Suchy, S.; Terry Jara, H.; Drochner, W.; Müller, M. (1999) A survey of *Fusarium* toxins in cereal-based foods marked in an area of southwest Germany. *Mycopathologia* **147**, 49-57
- Schollenberger, M.; Müller H.M.; Drochner W. (2002) *Fusarium* toxins in different food samples. *Mycotoxin Res.* **18**(1), 39-42
- Schollenberger, M.; Müller H.M.; Drochner W. (2003) Deoxynivalenol Contents in Foodstuffs of Organic and Conventional Production. *Mycotoxin Res.* **19**(1), 39-42

- Schollenberger, M.; Müller H.M.; Rüfle, M.; Terry-Jara, H.; Suchy, S.; Plank, S.; Drochner W. (2007) Natural occurrence of Fusariumtoxins in soy food marketed in Germany. *Internat. J. Food Microbiol.* **113**, 142-146
- Schuh, M.; Leibetseder, J.; Glawischnig, E. (1982) Chronic effects of different levels of deoxynivalenol (vomitoxin) on weight gains, feed consumption, blood parameters, pathological as well as histopathological changes in fattening pigs. *Proc. 5th International IUPAC Symp. Mycotoxins and Phytotoxins.* 273-276
- Schultz, B., Ellner, F. M., Godmann, M., Bittner, C. (2007) Untersuchungen zur Pathogenität und Mykotoxinbildung von *Fusarium sambucinum*, dem Erreger der Trockenfäule an Kartoffeln. *Mycotoxin Res.*, **23**, 2, 78-84
- Scientific committee in Food (SCF) (1999) Opinions on fusarium toxins, Part 1: Deoxynivalenol (DON). Europ. Commission [www.europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/scf/index\\_en.html](http://www.europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/scf/index_en.html) 03/2010
- Scientific Committee on Food (SFC)(2002) Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, Nivalenol and Deoxynivalenol. European Commission Health & Consumer protection Directorate-General, Directorate C – Scientific Opinions
- Smith, T.K. (1992) Recent advances in understanding of *Fusarium* trichothecene mycotoxins. *J. Anim. Sci.* **70**, 3989-3993
- Smith, T.K.; McMillan, E.G.; Castillo, J.B. (1997) Effect of feeding blends of Fusarium mycotoxin-contaminated grains containing deoxynivalenol and fusaric acid on growth and feed consumption of immature swine. *J. Anim. Sci.* **75**, 2184-2191
- Smith, T.K.; Sanei, M.M.; MacDonald, E.J.; Haladi, S. (2000) Update on mycotoxins in feeds. *Proceedings of the 21. Western Nutrition Conference*, 28.-29. Sept. 2000, Winnipeg, Manitoba
- Stünzi, H.; Weiß, E. (1990) *Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin*. 8. Aufl. Parey-Verlag
- Swanson, S.P.; Helaszek, C.; Buck, W.B.; Rood Jr., H.D.; Haschek, W.M. (1988) The role of intestinal microflora in the metabolism of trichothecene mycotoxins. *Food Chem. Toxic.* **26**(10), 823-829
- Swanson, S.P.; Corley, R.A. (1989) The distribution, metabolism, and excretion of trichothecene mycotoxins aus Beasley: Trichothecene mycotoxicosis: pathophysiologic effects, 37-61
- Thieu, N. Q.; Pettersson, H. (2009) Zearalenone, deoxynivalenol and aflatoxin B1 and their metabolites in pig urine as biomarkers for mycotoxin exposure. *Mycotoxin Res.* **25**(2), 59-66
- Thurston, J. R.; Richard, J. L.; Peden, W. M. (1986). Immunologic changes associated with mycotoxicoses. 14. Immunomodulation in mycotoxicoses other than aflatoxicosis. In *Diagnosis of mycotoxicoses*, eds. J. L. Richard and J. R. Thurston, pp.149–161. Boston: Martinus Nijhoff.
- Trenholm, H.L.; Cochrane, W.P.; Cohen, H.; Elliot, J.I.; Farnworth, E.R.; Friend, D.W.; Hamilton, R.M.G.; Standish, J.F.; Thompson, B.K. (1983) Survey of vomitoxin contamination of 1980 Ontario white winter crop: Results of survey and feeding trials. *J. Ass. Off. Anal. Chem.* **66**, 92-97
- Trenholm, H.L.; Hamilton, R.M.G.; Friend, D.W.; Thompson, B.K.; Hartin, K.E. (1984) Feeding trials with vomitoxin (deoxynivalenol)-contaminated wheat: Effects on swine, poultry, and dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **185**, 527-531
- Trenholm, H.L.; Thompson, B.K.; Hartin, K.E.; Greenhalgh, R.; McAllister, A.J. (1985) Ingestion of vomitoxin (deoxynivalenol)-contaminated wheat by nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* **68**, 1000-1005

- Trenholm, H.L.; Foster, B.C.; Charmley, L.L.; Thompson, B.K.; Hartin, K.E.; Coppock, R.W.; Albassam, M.A. (1994) Effects of feeding diets containing *Fusarium* (naturally) contaminated wheat or pure deoxynivalenol (DON) in growing pigs. *Can. J. Anim. Sci.* **74**, 361-369
- Valenta, H.; Dänicke, S.; Blüthgen, A. (2002) Mycotoxins in Soybean Feedstuffs used in Germany. *Mycotoxin Res.* **18**, Suppl. 2
- Vesonder, R.F.; Ciegler, A.; Jensen, A.H. (1973) Isolation of the emetic principle from *Fusarium*-infected corn. *Appl. Environ. Microbiol.* **26**, 1008-1010
- Vesonder, R.F.; Ciegler, A.; Jensen, A.H.; Rohwedder, W.K.; Weisleder, D. (1976) Co-identity of the refusal and emetic principle from *Fusarium*-infected corn. *Appl. Environ. Microbiol.* **31**, 280-286
- Voet, D.; Voet, J.G. (1992) Citronensäure-Cyklus. Aus *Biochemie*, Kap. 19, 504-526
- Warner, R.L.; Brooks, K.; Pestka, J.J. (1994) In vitro effects of vomitoxin (deoxynivalenol) on T-cell interleukin production and IgA secretion. *Food. Chem. Toxic.* **32**(7), 617-625
- Wetscherek, W.; Huber, H.; Lew, J. (1998) Einsatz von mit Myxotoxinen kontaminiertem Mais und von Detoxifikationsmitteln in der Schweinemast. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* **7**, 93
- WHO (1990) Some selected mycotoxins: ochratoxins, trichothecenes, ergot (Environmental health criteria 105). World Health Organization, Geneva, Switzerland, 263 pp.
- WHO (1993) Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans **56**, 397-444
- Weiß J, Quanz G, Przybilla P, Hertrampf B (1999) Pilztoxine mit speziellen Futterzusätzen inaktivieren? *Deutsche Geflügel- und Schweineproduktion* **44**(99), 33-38.
- Widestrand, J. (2001) Assessment of trichothecene contamination: Chemical aspects and biological methodology. *Doct. thesis Dep. Anim. Nutr., University of Agricultural Sciences, Uppsala*
- Williams, K.C.; Blaney, B.J.; Magee, M.H. (1988) Responses of pigs fed wheat naturally infected with *Fusarium graminearum* and containing the mycotoxins 4-deoxynivalenol and zearalenone. *Aust. J. Agric. Res.* **39**, 1095-1105
- Wolf-Hall, C.E.; Hanna, M.A.; Bullerman, L.B. (1999) Stability of deoxynivalenol in heat-treated foods. *J. Food Protection* **62**(8) 962-964
- Yan, D.; Rumble, W.K.; Pestka, J.J. (1998) Experimental murine IgA nephropathy following passive administration of vomitoxin induced IgA monoclonal Antibodies. *Food Chem. Toxicol.* **36**, 1095-1106
- Yoshizawa, T.H.; Takeda, H.; Oji, T. (1983) Structure of a novel metabolite from Deoxynivalenol, a trichothecene mycotoxin, in animals. *Agric. Biol. Chem.* **47**; 2133-2135
- Young, L.G.; Vesonder, R.F.; Funnell, H.S.; Simons, I.; Wilcock, B. (1981) Moldy corn in diets of swine. *J. Anim. Sci.* **52**, 1312-1318.
- Young, J.C.; McGirr, L.; Valli, V.E.; Lumsden, J.H.; Lun, A. (1983) Vomitoxin in corn fed to young pigs. *J. Anim. Sci.* **57**, 655-664
- Zerull, K.; Breves, G.; Schröder, B.; Goyarts, T.; Dänicke, S. (2005) The influence of the mycotoxin deoxynivalenol on jejunal glucose transport in pigs. *Mycotoxin Res.*, **21**, 4, 251-257
- Zhou, H.-R.; Harkema, J.R.; Yan, D.; Pestka, J.J. (1999) Amplified proinflammatory cytokine expression and toxicity in mice coexposed to lipopolysaccharide and the trichothecene vomitoxin (deoxynivalenol). *J. Toxic. Environ. Health A* **56**, 115-136
- Zhou, H.-R.; Harkema, J.R.; Hotchkiss, J.A.; Yan, D.; Roth, R.A.; Pestka, J.J. (2000) Lipopolysaccharide and the trichothecene vomitoxin (deoxynivalenol) synergistically induce apoptosis in murine lymphoid organs. *Toxicological Sciences* **53**, 253-263

## 10 TABELLENANHANG

Tabelle 26 Bezugsquellen der für die enzymatischen Untersuchung verwendeten Chemikalien.

<b>Chemikalien</b>	<b>Lieferant</b>	<b>Charakteristik</b>	<b>Bestell-Nr.</b>
$\alpha$ -Ketoglutarat	Sigma Chem.	disodium salt	K 3752
$\alpha$ -Ketoglutarate DH	Sigma Chem.	from porcine heart	K 1502
Bocine Serum Albumine	Roche	fraction V for standard applications lyophilisate (>95% Protein)	775860
Coenzym A	Roche	grade I, free acid lyoph., 85% red. CoA	103 441
Dithiotreitol	Sigma Chemical	min. 99 % (titration)	D 0632
EGTA	Sigma Chem.	free acid min. 97 %	E 4378
Ethanol	Merck	absolut zur Analyse	1.00983.2500
HEPES	Sigma Chem.	free acid min. 99,5 % (titration)	H 3375
$K_3PO_4 \times 7 H_2O$	Merck	zur Analyse	1.05103.0500
KCl	Merck	zur Analyse	1.04936.1000
Mannitol	Sigma Chem.		M 4125
$MgCl_2 \times 6 H_2O$	Merck	zur Analyse	1.05833.0250
$Na_2HPO_4 \times 12 H_2O$	Merck	zur Analyse ISO	1.06579.1000
NaCl	Merck	zur Analyse	6404
NAD	Roche	grade I, free acid lyoph. approx. 100 %	127 965
$NaH_2PO_4 \times H_2O$	Merck	zur Analyse ACS	1.06346.1000
Phosphorsäure	Merck	zur Analyse ISO, 85 %	1.00573.1000
Serva Blau	Serva		serva 35050
Thimerosal	Sigma Chem.		T 5125
Tris-HCl	Merck	zur Analyse	1.08219.0100
Triton X-100	Merck	zur Analyse	1.08603.1000

**Tabelle 27** Empfehlungen zur Energie und Proteinversorgung von Ferkeln pro Tier/Tag (DLG-Futterwert-Tab.) basierend auf Futterprotein mit 5,3 % Lysin, 3,2 % Methionin + Cystin, 3,5 % Threonin, 4,2 % Isoleucin und 1,3 % Tryptophan und Protein-verdaulichkeit ca 83 %

<b>Tägliche Zunahmen (g)</b>	<b>Lebendmassebereich (kg)</b>				
	<b>5</b>	<b>10</b>	<b>15</b>	<b>20</b>	<b>25</b>
	Umsetzbare Energie (MJ)				
<b>100</b>	2,6	-	-	-	-
<b>200</b>	4,3	5,2	6,0	-	-
<b>300</b>	6,0	7,1	8,0	9,0	-
<b>400</b>	-	8,9	10,0	11,2	-
<b>500</b>	-	-	12,0	13,3	-
<b>600</b>	-	-	-	15,5	-
	Rohprotein (g)				
<b>100</b>	46	-	-	-	-
<b>200</b>	75	86	96	-	-
<b>300</b>	105	117	128	136	-
<b>400</b>	-	148	160	168	-
<b>500</b>	-	-	192	201	-
<b>600</b>	-	-	-	233	-
	Lysin (g)				
<b>100</b>	2,4	-	-	-	-
<b>200</b>	4,0	4,6	5,1	-	-
<b>300</b>	5,6	6,2	6,8	7,2	-
<b>400</b>	-	7,9	8,5	8,9	-
<b>500</b>	-	-	10,1	10,6	-
<b>600</b>	-	-	-	12,3	-

**Tabelle 28** Anteile einzelner Hauptkomponenten der Futtermischungen in % der Trockensubstanz.

<b>Weizenration</b>	<b>g/100g i.d.Mischung</b>	<b>TS in %</b>
Magermilchpulver	15	14,06
Süßmolkenpulver	15	14,51
Kartoffeleiweiß	10	9,20
Weizen LB geschrotet (alternativ TA/SA)	52	46,57
Weizen SA geschrotet (alternativ TA/LB)	52	46,40
Weizen TA geschrotet (alternativ LB/SA)	52	46,05
<b>Kartoffelration</b>	<b>g/100g i.d.Mischung</b>	<b>TS in %</b>
Magermilchpulver	15	14,06
Süßmolkenpulver	15	14,51
Kartoffeleiweiß	15	13,81
Kartoffelinstantpulver	38	35,53



Tabelle 29 Einzeldaten der Gewichtsentwicklung der Tiere in *Durchgang A*, Futterregime restriktiv

Diät	Tier	Körpergewicht [kg]				
		Tag 0	Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
W 0	1	13,5	16,7	20,3	24,7	28
	2	12,6	15,7	18,9	23,3	26,4
	3	11,2	12,8	16,9	21,6	25,1
	4	10,3	13,5	15,5	19,6	22,5
	5	11,3	14	17,6	21,7	24,9
	MW	11,8	14,5	17,8	22,2	25,4
	Stabw.	1,3	1,6	1,8	1,9	2
	rel. Stabw.	10,73	11,1	10,33	8,68	8,02
W 4000	6	13,3	15,7	19,3	23,7	26,7
	7	12,1	14,3	17,8	21,6	24,2
	8	11,7	14	17,7	21,2	23,7
	9	11,1	13,4	16,8	21,4	23,9
	10	10,3	12,3	15,4	19,2	21,9
	MW	11,7	13,9	17,4	21,4	24,1
	Stabw.	1,12	1,25	1,43	1,6	1,7
	rel. Stabw.	9,59	8,94	8,24	7,46	7,07
	11	15,9	19,2	23,8	29	33,2
Ka 0	12	14,3	17,6	21,6	26,9	30,5
	13	11,3	14,3	17,6	22,5	24,6
	14	11	13,6	17	21,4	24,2
	15	9,8	11,7	14,4	18,5	21,5
	MW	12,5	15,3	18,9	23,7	26,8
	Stabw.	2,54	3,06	3,77	4,25	4,87
	rel. Stabw.	20,37	20	19,97	17,94	18,19
Ka 4000	16	14,7	17,2	21,1	25,9	28,9
	17	14,3	17,5	21,4	26	29,9
	18	11,6	14,4	17,8	21,1	24,2
	19	11,5	13,9	17	21,7	25
	20	9,8	11,1	14,3	18	20,6
	MW	12,4	14,8	18,3	22,5	25,7
	Stabw.	2,07	2,63	2,97	3,42	3,77
	rel. Stabw.	16,71	17,76	16,24	15,15	14,68

W = Weizen, Ka = Kartoffel, 0/4000 = 0/4000 µg DON/kg Futter, MW = Mittelwert, Stabw = Standardabweichung, rel. Stabw. = relative Standardabweichung

Tabelle 30 Einzeldaten der täglichen Zunahmen der Tiere in *Durchgang A*, Futterregime restriktiv

Diät	Tier	Zunahmen [g/Tier/T]			
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4
W 0	1	457	514	629	464
	2	443	457	629	443
	3	229	586	671	500
	4	457	286	586	407
	5	386	514	586	457
	MW	394,3	471,4	620	454,3
	Stabw.	97,2	113,4	35,9	33,7
	rel. Stabw.	24,65	24,05	5,78	7,42
W 4000	6	343	514	629	421
	7	314	500	543	364
	8	329	529	500	357
	9	329	486	657	350
	10	286	443	543	386
	MW	320	494,3	574,3	375,7
	Stabw.	21,67	32,89	65,78	28,84
	rel. Stabw.	6,77	6,65	11,45	7,68
Ka 0	11	471	657	743	600
	12	471	571	757	514
	13	429	471	700	306
	14	371	486	629	393
	15	271	386	586	421
	MW	402,9	514,3	682,9	446,9
	Stabw.	84,15	103,51	73,82	113,45
	rel. Stabw.	20,89	20,13	10,81	25,39
Ka 4000	16	357	557	686	421
	17	457	557	657	557
	18	400	486	471	443
	19	343	443	671	464
	20	186	457	529	364
	MW	348,6	500	602,9	450
	Stabw.	101,32	54,4	96,57	70,53
	rel. Stabw.	29,07	10,88	16,02	15,67

W = Weizen, Ka = Kartoffel, 0/4000 = 0/4000 µg DON/kg Futter, MW = Mittelwert, Stabw = Standardabweichung, rel. Stabw. = relative Standardabweichung

**Tabelle 31** Einzeldaten der täglich aufgenommenen Futtermenge der Tiere in *Durchgang A*, Futterregime restriktiv

Diät	Tier	Futtermenge [g TS/Tier/T]			
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4
W 0	1	557	708	917	1156
	2	537	677	867	1108
	3	490	567	817	1073
	4	459	613	737	990
	5	497	620	804	1081
	MW	508	636,9	828,6	1081,7
	Stabw.	39,1	55,8	68	60,9
	rel. Stabw.	7,7	8,76	8,21	5,63
W 4000	6	552	667	913	1111
	7	515	622	837	1064
	8	506	614	837	1051
	9	496	596	821	1048
	10	458	557	733	977
	MW	505,2	611,2	828,1	1050
	Stabw.	33,9	39,9	63,87	48,3
	rel. Stabw.	6,71	6,53	7,71	4,6
Ka 0	11	639	781	1039	1318
	12	592	735	964	1247
	13	496	634	827	1049
	14	484	607	809	1053
	15	442	537	712	958
	MW	530,4	658,6	870,2	1125,1
	Stabw.	81,73	98,65	130,43	150,74
	rel. Stabw.	15,41	14,98	14,99	13,4
Ka 4000	16	603	712	947	1189
	17	592	731	956	1210
	18	502	634	835	1053
	19	500	613	850	1086
	20	442	508	669	937
	MW	527,6	639,5	851,3	1094,9
	Stabw.	67,97	89,09	115,83	110,58
	rel. Stabw.	12,88	13,93	13,61	10,1

W = Weizen, Ka = Kartoffel, 0/4000 = 0/4000 µg DON/kg Futter, TS = Trockensubstanz, MW = Mittelwert, Stabw = Standardabweichung, rel. Stabw. = relative Standardabweichung

Tabelle 32 Einzeldaten der Gewichtsentwicklung der Tiere in *Durchgang B*, Futterregime ad lib.

Diät	Tier	Körpergewicht [kg]				
		Tag 0	Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
W 0	1	15	20,2	26,5	31,1	36,4
	2	14,2	19,5	25,7	32,4	38,5
	3	13	17,9	24	30,5	36,2
	4	12,8	18,2	24,5	28,8	34
	5	9,9	14,2	19,1	23,5	28,1
	MW	13	18	24	29,3	34,6
	Stabw.	1,94	2,32	2,89	3,47	3,99
	rel. Stabw.	14,96	12,9	12,06	11,86	11,51
W 4000	6	15,7	18,8	24,2	28,6	33
	7	14,1	18	22,7	26,6	29,5
	8	13,2	18,3	23,2	28,8	33,2
	9	11,8	13,7	17,8	22,5	26,5
	10	11,1	14,9	19,4	23,6	27,2
	MW	13,2	16,7	21,5	26	29,9
	Stabw.	1,83	2,29	2,73	2,87	3,14
	rel. Stabw.	13,9	13,65	12,7	11,03	10,52
W 6000	11	14,6	16,9	21,3	26,1	29,6
	12	13,6	16	20,4	24,9	28,4
	13	13,5	16,3	19,4	21,9	25,9
	14	11,3	12,8	15,5	18,8	22,7
	15	10,5	12,2	15,3	20,3	23,8
	MW	12,7	14,8	18,4	22,4	26,1
	Stabw.	1,72	2,17	2,8	3,06	2,93
	rel. Stabw.	13,56	14,63	15,25	13,68	11,25

W = Weizen, 0/4000/6000 = 0/4000/6000 µg DON/kg Futter, MW = Mittelwert, Stabw = Standardabweichung, rel. Stabw. = relative Standardabweichung

Tabelle 33 Einzeldaten der täglichen Zunahmen der Tiere in *Durchgang B*, Futterregime ad lib.

Diät	Tier	Zunahmen [g/Tier/T]			
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4
W 0	1	743	900	657	757
	2	757	886	957	871
	3	700	871	929	814
	4	771	900	614	743
	5	614	700	629	657
	MW	717,1	851,4	757,1	768,6
	Stabw.	63,41	85,48	170,53	80,43
	rel. Stabw.	8,84	10,04	22,52	10,47
W 4000	6	443	771	629	629
	7	557	671	557	414
	8	729	700	800	629
	9	271	586	671	571
	10	543	643	600	514
	MW	508,6	674,3	651,4	551,4
	Stabw.	167,7	68,81	92,91	90,12
	rel. Stabw.	32,97	10,2	14,26	16,34
W 6000	11	329	629	686	500
	12	343	629	643	500
	13	400	443	357	571
	14	214	386	471	557
	15	243	443	714	500
	MW	305,7	505,7	574,3	525,7
	Stabw.	76	114,55	153,66	35,57
	rel. Stabw.	24,86	22,65	26,76	6,77

W = Weizen, 0/4000/6000 = 0/4000/6000 µg DON/kg Futter, MW = Mittelwert, Stabw = Standardabweichung, rel. Stabw. = relative Standardabweichung

**Tabelle 34** Einzeldaten der täglich aufgenommenen Futtermenge der Tiere in *Durchgang B*, Futterregime ad lib.

Diät	Tier	Futtermenge [g TS/Tier/T]			
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4
W 0	1	936	1188	1228	1440
	2	1009	1321	1515	1694
	3	932	1133	1373	1696
	4	919	1084	1179	1398
	5	799	908	963	1300
	MW	919	1126,9	1251,5	1505,8
	Stabw.	75,78	150,94	208,15	180,05
	rel. Stabw.	8,25	13,39	16,63	11,96
W 4000	6	838	961	1096	1168
	7	846	968	1163	990
	8	923	1160	1318	1344
	9	555	740	979	942
	10	765	877	983	1183
	MW	785,5	941,3	1107,8	1125,5
	Stabw.	140,26	153,2	141,04	162,04
	rel. Stabw.	17,86	16,28	12,73	14,4
W 6000	11	668	785	1059	1058
	12	687	920	1202	1211
	13	706	698	686	749
	14	474	550	716	910
	15	490	607	865	1034
	MW	605,1	712	905,6	992,3
	Stabw.	113,39	146,64	222,02	173,09
	rel. Stabw.	18,74	20,6	24,52	17,44

W = Weizen, 0/4000/6000 = 0/4000/6000 µg DON/kg Futter, TS = Trockensubstanz, MW = Mittelwert, Stabw = Standardabweichung, rel. Stabw. = relative Standardabweichung

**Tabelle 35** Gewichtsentwicklung der Tiere in *Durchgang C*, Einzeldaten, Futterregime ad lib.

Diät	Tier	Körpergewicht [kg]				
		Tag 0	Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
Ka 0	1	16	20,3	25,9	31,9	37,5
	2	12,3	16,3	21,2	26,3	30,5
	3	13,2	15,4	20	25,1	30
	4	12,1	15,4	19,5	24	28,6
	5	10,9	14,4	19,4	25,3	30,6
	MW	12,9	16,4	21,2	26,5	31,4
	Stabw.	1,92	2,3	2,72	3,12	3,48
	rel. Stabw.	14,86	14,08	12,84	11,75	11,07
Ka 4000	6	14,3	17,7	21,4	26	31,2
	7	14,6	18,7	23,7	28,9	34,7
	8	13	15,9	20,8	24,9	29,1
	9	11,9	15,2	19,9	25,1	29,8
	10	10,4	13,5	16,6	21,1	25,3
	MW	12,8	16,2	20,5	25,2	30
	Stabw.	1,74	2,05	2,58	2,79	3,41
	rel. Stabw.	13,54	12,68	12,62	11,09	11,35
Ka 6000	11	14,9	18,5	23,3	28,6	34,3
	12	13,5	16,6	21	25,8	29,5
	13	13,4	17,3	22,6	28,6	33
	14	11,8	15	18,6	22,6	27,4
	15	10,7	13,5	16,9	21,9	27,1
	MW	12,9	16,2	20,5	25,5	30,3
	Stabw.	1,63	1,96	2,7	3,19	3,26
	rel. Stabw.	12,69	12,12	13,16	12,51	10,78

Ka = Kartoffel, 0/4000/6000 = 0/4000/6000 µg DON/kg Futter, MW = Mittelwert, Stabw = Standardabweichung, rel. Stabw. = relative Standardabweichung

Tabelle 36 Einzeldaten der täglichen Zunahmen der Tiere in *Durchgang C*, Futterregime ad lib.

Diät	Tier	Zunahmen [g/Tier/T]			
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4
Ka 0	1	614	800	857	800
	2	571	700	729	600
	3	314	657	729	700
	4	471	586	643	657
	5	500	714	843	757
	MW	494,3	691,4	760	702,9
	Stabw.	115,44	78,64	89,44	79,15
	rel. Stabw.	23,36	11,37	11,77	11,26
Ka 4000	6	486	529	657	743
	7	586	714	743	829
	8	414	700	586	600
	9	471	671	743	671
	10	443	443	643	600
	MW	480	611,4	674,3	688,6
	Stabw.	65,15	119,69	68,06	98,15
	rel. Stabw.	13,57	19,58	10,09	14,25
Ka 6000	11	514	686	757	814
	12	443	629	686	529
	13	557	757	857	629
	14	457	514	571	686
	15	400	486	714	743
	MW	474,3	614,3	717,1	680
	Stabw.	61,78	114,29	104,2	109,08
	rel. Stabw.	13,03	18,6	14,53	16,04

Ka = Kartoffel, 0/4000/6000 = 0/4000/6000 µg DON/kg Futter, MW = Mittelwert, Stabw = Standardabweichung, rel. Stabw. = relative Standardabweichung

Tabelle 37 Einzeldaten der täglich aufgenommenen Futtermenge der Tiere in *Durchgang C*, Futterregime ad lib.

Diät	Tier	Futtermenge [g TS/Tier/T]			
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4
Ka 0	1	762	959	1236	1351
	2	686	913	1093	1160
	3	575	782	946	1080
	4	656	834	1015	1145
	5	589	818	1051	1207
	MW	653,6	861,3	1068	1188,6
	Stabw.	76,09	72,72	108,18	101,42
	rel. Stabw.	11,64	8,44	10,13	8,53
Ka 4000	6	674	845	1069	1170
	7	794	997	1190	1306
	8	667	832	955	1052
	9	619	807	1050	1177
	10	487	609	733	937
	MW	648	818	999,6	1128,5
	Stabw.	110,64	138,26	170,89	139,91
	rel. Stabw.	17,07	16,9	17,09	12,4
Ka 6000	11	723	931	1127	1218
	12	663	837	977	1069
	13	720	976	1222	1323
	14	569	675	824	863
	15	492	654	882	1026
	MW	633,4	814,5	1006,6	1099,8
	Stabw.	100,54	146,02	166,48	177,7
	rel. Stabw.	15,87	17,93	16,54	16,16

Ka = Kartoffel, 0/4000/6000 = 0/4000/6000 µg DON/kg Futter, RS = Trockensubstanz, MW = Mittelwert, Stabw = Standardabweichung, rel. Stabw. = relative Standardabweichung

Tabelle 38 Mittelwerte Blutparameter *Durchgang A* (SAS-Werte)

Parameter	Zeit	Ls-means [Dosis*Diät]				SEM	sig. Fakt $p \leq 0,05$
		W 0	W 4000	Ka 0	Ka 4000		
Glucose [mg/dl]	0	89,8	93,0	89,8	91,4	4,75	Alt
	14	97,0	109,8	93,2	84,0	22,83	
	28	102,0	100,6	82,0	93,0	4,82	
Triglyceride [mg/dl]	0	31,3	34,7	40,8	35,0	3,70	Di, Dos*Di
	14	27,2	33,4	43,6	29,8	4,88	
	28	25,2	28,0	47,0	29,8	3,24	
Bilirubin [mg/dl]	0	0,38	0,37	0,38	0,40	0,013	Vday
	14	0,13	0,13	0,17	0,15	0,019	
	28	0,29	0,29	0,31	0,28	0,013	
ALT (GPT) [U/l]	0	13,8	11,7	16,0	20,8	1,51	Di
	14	14,2	16,2	20,8	28,6	2,42	
	28	17,2	18,0	23,8	25,8	2,11	
GGT [U/l]	0	20,0	19,7	20,0	14,0	2,29	(Dos*Di)
	14	19,0	23,0	23,0	16,0	2,41	
	28	19,4	23,6	25,0	16,8	2,21	
Alk. Phosph. [U/l]	0	359,3	416,3	340,2	372,2	38,35	Alt, Vday
	14	411,0	465,0	393,0	376,4	45,00	
	28	345,6	384,0	392,0	364,0	22,18	
SDH [U/l]	0	0,20	1,27	0,37	0,50	0,068	Dos, Di, Dos*Di, Vday*Dos
	14	0,21	0,68	0,40	0,48	0,081	
	28	0,52	0,34	0,39	0,34	0,126	
Harnstoff [mg/dl]	0	17,8	18,7	10,6	10,4	2,01	Di
	14	23,0	20,4	16,4	16,2	1,19	
	28	31,6	26,4	26,6	26,6	2,39	
Anorg. Phosphat [mmol/l]	0	2,5	2,5	2,6	2,5	0,14	Di
	14	2,4	2,1	3,1	2,6	0,46	
	28	2,8	2,9	3,5	3,0	0,13	
T4 [µg/dl]	0	3,4	4,3	3,2	3,3	0,35	Dos
	14	3,7	4,3	3,8	4,2	0,27	
	28	4,3	5,1	3,7	6,1	0,46	
IgA [mg/ml]	0	0,51	0,69	0,60	0,46	0,077	
	28	0,68	0,82	0,86	0,69	0,132	

Alt = Alter, Di = Diät, Dos\*Di = Wechselwirkung Dosis/Diät, Vday = Versuchstag, Dos = Dosis, Vday\*Dos = Wechselwirkung Versuchstag/Dosis,

Tabelle 39 Mittelwerte Blutparameter *Durchgang B+C* (SAS-Werte)

Parameter	Zeit	Ls-means [Dosis*Diät]						SEM	sig. Fakt $p \leq 0,05$
		W 0	W 4000	W 6000	Ka 0	Ka 4000	Ka 6000		
Glu	0	101,0	102,4	100,6	84,3	94,0	82,0	5,31	Di, Vday
	14	114,6	114,2	105,0	101,2	103,6	100,2	3,83	
	28	116,0	113,2	111,8	98,2	99,0	100,0	4,14	
Triglyceride [mg/dl]	0	39,0	48,8	34,8	24,3	30,0	31,6	4,23	Dos, Di, Vday*Di
	14	29,6	48,8	33,6	26,0	35,0	34,0	3,20	
	28	24,6	38,4	30,2	26,8	30,8	29,3	3,62	
Cholesterin [mg/dl]	0	80,5	89,8	82,8	63,0	61,4	67,0	5,18	Di
	14	87,0	84,4	76,0	65,0	67,2	62,6	4,77	
	28	87,2	81,2	85,4	71,6	75,2	63,8	5,55	
Bilirubin [mg/dl]	0	0,22	0,21	0,31	0,07	0,10	0,11	0,043	Vday, Vday*Di
	14	0,08	0,09	0,10	0,12	0,13	0,15	0,009	
	28	0,08	0,09	0,10	0,17	0,16	0,15	0,015	
ALT (GPT) [U/l]	0	17,8	16,2	13,2	14,9	21,2	15,1	1,52	Vday, Vday*Di, Dos*Di
	14	22,9	18,5	18,4	16,8	23,9	20,7	2,52	
	28	17,8	17,0	15,5	19,1	25,7	22,0	1,65	
GLDH [U/l]	0	0,40	0,45	0,59	0,65	0,47	0,56	0,116	Dos*Di
	14	0,27	0,43	0,85	0,89	0,57	0,57	0,239	
	28	0,26	0,33	0,40	0,49	0,63	0,44	0,059	
Alk. Phosph. [U/l]	0	478,9	345,7	458,0	286,0	415,6	339,4	36,34	Dos*Di, Vday*Di, Vday*Dos*Di
	14	428,0	322,8	286,6	352,8	350,8	320,6	27,16	
	28	392,0	293,2	315,2	346,2	349,0	307,3	27,78	
SDH [U/l]	0	1,1	1,5	1,2	1,1	1,6	1,3	0,48	Vday*Di
	14	0,7	0,9	0,5	0,7	1,2	1,1	0,19	
	28	1,0	1,2	1,6	0,5	0,4	0,5	0,13	
Harnstoff [mg/dl]	0	24,8	22,1	20,7	21,7	20,7	18,7	1,73	Di, Vday, Dos*Di, Vday*Di
	14	23,7	22,3	17,5	18,4	18,0	20,1	1,84	
	28	31,0	31,6	24,6	20,9	20,7	23,4	2,58	
Kreatinin [mg/dl]	0	0,9	1,1	0,8	0,8	0,8	0,9	0,06	
	14	1,0	1,1	1,0	0,9	0,9	1,0	0,05	
	28	1,0	1,1	1,0	1,0	0,9	1,0	0,05	
T3 [µg/dl]	0	36,2	30,7	41,7	40,1	73,4	67,6	11,68	Vday, Vday*Di
	14	78,8	73,2	68,4	65,1	82,8	61,0	11,89	
	28	79,4	68,2	71,0	67,9	71,1	68,3	11,94	
T4 [µg/dl]	0	5,4	4,8	4,8	2,7	3,7	4,0	0,50	Di
	14	5,6	5,8	5,6	4,0	3,7	4,0	0,43	
	28	6,2	6,3	5,9	4,8	4,3	4,9	0,44	
IgA [mg/ml]	0	0,48	0,54	0,61	0,47	0,48	0,48	0,057	Alt, Dos, Di, Vday*Di
	28	0,75	0,79	0,91	0,58	0,65	0,71	0,074	

Di = Diät, Vday = Versuchstag, Dos = Dosis, Vday\*Di = Wechselwirkung Versuchstag/Diät, Dos\*Di = Wechselwirkung Dosis/Diät, Alt = Alter



**Tabelle 40** Proteingehalt, ALT- und  $\alpha$ -Ketoglutarat-Dehydrogenase-Aktivität in der Darmmukosa beiausgewählten Tieren aller Gruppen des ersten Versuchsabschnitts *Durchgang A*.

Durchgang A		W 0		W 4000		Ka 0		Ka 4000	
Tier		3	4	8	9	13	14	18	19
Protein [mg/g tissue]	I	70,63	77,89	67,44	45,66	79,93	68,81	71,94	58,32
	II	69,57	77,56	66,23	39,99	83,29	75,98	64,27	59,24
MW der Gruppe		73,912		54,830		77,003		63,442	
Stabw.		4,426		14,065		6,229		6,239	
rel.Stabw. in %		5,99		25,65		8,09		9,83	
ALT [U/g Prot]	I	33,63	40,84	55,35	52,49	48,02	22,50	57,18	38,148
	II	21,61	37,65	54,14	53,16	42,79	31,37	64,15	35,52
MW der Gruppe		33,432		53,783		36,171		48,758	
Stabw.		8,418		1,244		11,464		14,081	
rel.Stabw. in %		25,18		2,31		31,69		28,88	
$\alpha$ -KGDH [U/g Prot]	I	325,91	365,64	306,62	260,62	395,36	323,21	295,57	377,96
	II	303,77	264,84	303,56	345,73	360,41	337,90	381,05	370,07
MW der Gruppe		315,038		304,132		354,224		356,165	
Stabw.		42,135		34,784		31,405		40,658	
rel.Stabw. in %		13,37		11,44		8,87		11,415	

W = Weizen, Ka = Kartoffel, 0/4000 = 0/4000  $\mu$ g DON/kg Futter, I/II = Doppelansatz einer Probe, MW = Mittelwert (aus den Doppelansätzen), Stabw = Standardabweichung, rel. Stabw. = relative Standardabweichung

**Tabelle 41** Proteingehalt, ALT- und  $\alpha$ -Ketoglutarat-Dehydrogenase-Aktivität in der Darmmukosa bei ausgewählten Tieren aller Gruppen des zweiten Versuchsabschnitts *Durchgang B*

Durchgang B		W 0			W 4000			W 6000		
Tier		2	3	5	6	8	10	11	13	14
Protein [mg/g tissue]	I	80,61	74,56	78,5	94,71	64,46	83,61	68,49	57,25	74,48
	II	81,6	71,38	86,22	96,63	83,7	73,46	-	63,67	79,67
MW der Gruppe		78,812			82,762			68,712		
Stabw.		5,2782			12,3139			8,8062		
rel.Stabw. in %		6,70			14,88			12,82		
ALT [U/g Prot]	I	31,12	42,38	32,15	44,78	33,89	36,27	20,13	21,86	42,14
	II	-	53,25	32,38	27,78	37,97	34,49	-	30,35	38
MW der Gruppe		38,256			35,863			30,496		
Stabw.		9,5467			5,5719			9,6689		
rel.Stabw. in %		24,95			15,54			31,71		
$\alpha$ -KGDH [U/g Prot]	I	574,85	392,44	372,77	535,01	329,87	364,63	489,93	330,55	426,94
	II	438,17	373,56	367,66	282,06	327,97	395,22	-	294,67	376,80
MW der Gruppe		419,908			372,460			383,778		
Stabw.		80,2434			88,2805			77,3844		
rel.Stabw. in %		19,11			23,70			20,16		

W = Weizen, 0/4000/6000 = 0/4000/6000  $\mu$ g DON/kg Futter, I/II = Doppelansatz einer Probe, MW = Mittelwert (aus den Doppelansätzen), Stabw = Standardabweichung, rel. Stabw. = relative Standardabweichung

## DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. W. Drochner danke ich ganz herzlich für die Bereitstellung des Themas und die immer geleistete Unterstützung. Insbesondere danke ich ihm, dass er sich auch nach langer Zeit immer noch für mich einsetzte und um einen guten Abschluß bemüht war.

Herrn Prof. Dr. Dr. habil. E. Usleber (JLU) danke ich ganz besonders, da er sich mir und dieser Arbeit als externer Betreuer angenommen hat und mich bei der Einreichung sowie während des Verfahrens ermutigend begleitete.

Fr. Zeidler (JLU) bin ich für den ein oder anderen Gang zum Promotionsbüro dankbar und dafür, dass sie mich durch die Formalitäten des Einreichungsverfahrens lotste.

Großer Dank gilt Herrn Dr. Uwe Lauber. Er führte mich immer sicher durch die wissenschaftliche Arbeit und ließ mich auch in der ausgedehnten Endphase nicht im Stich.

Frau Dr. Margit Schollenberger danke ich für die Durchführung der chemischen Analysen insbesondere HPLC, GC/MS-Analysen, die sie unermüdlich mit ihrem Team (Annette Schneider, Melanie Rüfle, Helga Terry) im Rahmen dieser Arbeit durchführte.

Der Versuchsstation für Tierhaltung, Tierzucht und Kleintierzucht möchte ich für die Bereitstellung der Versuchstiere danken.

Bei allen Mitarbeitern des Instituts für Tierernährung, die zum Gelingen dieses Projektes beigetragen haben, möchte ich mich ganz herzlich für ihren Einsatz und auch das gute Arbeitsklima bedanken.

Hierbei möchte ich besonders Herrn Prof. Dr. Müller für die fachliche Unterstützung danken und auch Herrn Prof. Dr. Mosenthin, der mir wertvolle Literatur-Beiträge zur Verfügung stellte.

Die Rationszusammenstellung übernahm dankenswerterweise Herr Dr. Steingäß, und für die Analysen der Mineralstoff- und Spurenelementgehalte bin ich Frau Helga Ott zu Dank verpflichtet.

Ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Tafai, ohne den mir die statistische Auswertung der erarbeiteten Ergebnisse, geschweige denn die Interpretation der daraus resultierenden Zahlen schlichtweg nicht möglich gewesen wäre. Er gewährte mir einen Einblick in die Statistik, der mich lehrte, meine Stärken in anderen Bereichen zu suchen.

Den Mitarbeitern der Tierklinik der Universität Hohenheim danke ich für die Unterstützung bei den pathologischen Sektionen, sowie für die Durchführung der histopathologischen Untersuchungen. Insbesondere Herrn Prof. Dr. Amselgruber danke ich für die Durchführung der immunhistologischen Untersuchungen.

Herrn Dr. Hüsgen vom Synlab-Verbund danke ich für die unbürokratische und zügige Untersuchung diverser Blutproben.

Ferner danke ich der GeVo-Labordiagnostik für die Auswertung der zellulären Blutbestandteile.

Ganz besonderer Dank gilt sowohl Herrn Prof. Dr. Gareis für die toxikologischen Untersuchungen mittels Zellkultur (MTT-Test), als auch Herrn Prof. Dr. Klobasa für die Untersuchungen zu den Immunglobulingehalten im Serum.

An die Mitarbeitern des Versuchsstalls geht ein herzliches Danke für deren Bemühungen bei der Pflege und Versorgung meiner Schweine vor, während und nach der Versuchszeit. Auch bei der Zusammenstellung der Futtermischungen sowie der Futterportionen war insbesondere Vincenzo mit seinem Beitrag mehr als eine Hilfe.

Ein ganz großes Dankeschön an all jene, die nicht namentlich aufgeführt sind, aber ihren Teil zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, z. B. bei der Bearbeitung des Probenmaterials an den Blutentnahmetagen, die Durchführung der Weender Futtermittelanalysen, den Aminosäurebestimmungen sowie die „manpower“ an den Schlachttagen.

Meiner Kollegin Kerstin Koch möchte ich für ihre Vertretung danken. Ihr Beitrag war entscheidend für die Fertigstellung der Arbeit.

Einen nicht zu unterschätzenden Beitrag zu dieser Arbeit leistete mein Mann Gösta. So manche Schlacht mit dem Computer im Allgemeinen sowie mit Diagrammen und Formatierungen im Detail wäre ohne ihn wohl nicht zu meinen Gunsten entschieden worden. Meinen Kindern Felix und Anna-Lisa, danke ich für die Erkenntnis, dass Zeit endlich ist und manchmal unbegreiflich schnell vergeht.

Meinen Eltern gilt letztlich mein größter Dank. Sie haben mir diesen Weg erst möglich gemacht und mir immer Rückhalt gegeben. Ich hatte stets in allem die freie Wahl, was nicht selbstverständlich ist.

## **ERKLÄRUNG ZUR DISSERTATION**

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der "Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis" niedergelegt sind, eingehalten.

Gez. Tanja Dillenburger

Ludwigsburg, den 10.08.2011

## **VERÖFFENTLICHUNG VON TEILEN DIESER ARBEIT**

- Dillenburger, T.; Lauber, U.; Steffl, M.; Schweiger, M.; Drochner, W. (2000) Wirkung von Deoxynivalenol auf den Magen-Darm-Trakt männlicher Läuferschweine. *Mycotoxin Res.* 16A (No.2), 162-165
- Lauber, U.; Dillenburger, T.; Schollenberger, M.; Müller, H.-M.; Drochner, W. (2000) Transformation von Deoxynivalenol durch die Darmflora des Schweines - In-vitro Untersuchungen zur Adaptation in Abhängigkeit der Darreichungsform. *Mycotoxin Res.* 16A (No.2), 166-169
- Dillenburger, T.; Lauber, U.; Schollenberger, M.; Müller, H.-M.; Drochner, W. (2000) Wirkung von Deoxynivalenol beim wachsenden Schwein in Abhängigkeit der Darreichungsform. *Mycotoxin Res.* 16A (No.2), 170-173
- Lauber, U.; Dillenburger, T.; Drochner, W. (2000) Effects of feeding diets containing *Fusarium* naturally contaminated wheat or pure deoxynivalenol in growing pigs. In: Nirenberg, H.I. (ed.) 6th European *Fusarium* Seminar and Third Cost 835 Workshop, BBA and FU Berlin, Germany, 11th - 16th September, 2000. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtsch.* 377, 120



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-5864-7



9 783835 195864 7

Cover photo: © Herby ( Herbert ) Me - Fotolia.com